

# ХРАНЕНИЕ И ПЕРЕРАБОТКА СЕЛЬХОЗСЫРЬЯ

№ 4 | 2023

Периодичность издания — 4 номера в год  
Основан в 1993 г.

ISSN 2072–9669

eISSN 2658–767X

**УЧРЕДИТЕЛЬ:** Российский биотехнологический университет  
(РОСБИОТЕХ)

## РЕДАКЦИЯ

Заведующий редакцией и академический редактор —  
Тихонова Елена Викторовна  
Выпускающий редактор — Иванова Марина Александровна  
Ответственный секретарь — Косычева Марина Александровна

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС77–71128 от 22 сентября 2017 г.

Журнал включен в «Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук» по группам специальностей:

- 4.3.5. Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ (технические науки) — с 01.02.2022
- 2.3.3. Автоматизация и управление технологическими процессами и производствами (технические науки) — с 15.02.2023
- 4.1.4. Садоводство, овощеводство, виноградарство и лекарственные культуры (биологические науки) — с 15.02.2023
- 4.1.4. Садоводство, овощеводство, виноградарство и лекарственные культуры (технические науки) — с 15.02.2023
- 4.1.4. Садоводство, овощеводство, виноградарство и лекарственные культуры сельскохозяйственные науки) — с 15.02.2023
- 4.3.1. Технологии, машины и оборудование для агропромышленного комплекса (технические науки) — с 15.02.2023
- 4.3.1. Технологии, машины и оборудование для агропромышленного комплекса (сельскохозяйственные науки) — с 15.02.2023
- 4.3.3. Пищевые системы (биологические науки) — с 15.02.2023
- 4.3.3. Пищевые системы (технические науки) — с 15.02.2023

## КОНТАКТЫ:

125080, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11  
Тел. +7 (499) 750–01–11\*6585

E-mail: [info@spfp-mgupp.ru](mailto:info@spfp-mgupp.ru)

Сайт учредителя: [mgupp.ru](http://mgupp.ru)

Сайт журнала: [spfp-mgupp.ru](http://spfp-mgupp.ru)

Отпечатано в ООО «Издательство «Проспект»  
121471, Москва, ул. Рябиновая, 51-А, стр. 1.

Формат 60×84 1/8. Печать офсетная. Бумага офсетная.  
Тираж 500 экз. Подписано в печать 30.12.2023. Свободная цена.

© Российский биотехнологический университет  
(РОСБИОТЕХ), 2023

# STORAGE AND PROCESSING OF FARM PRODUCTS

№ 4 | 2023

Periodicity of publication — quarterly  
Published since 1993

ISSN 2072–9669

eISSN 2658–767X

**FOUNDER:** Russian Biotechnological University

## EDITORIAL OFFICE

Head of Editorial Team and Academic Editor —  
Elena V. Tikhonova  
Issue Editor — Marina A. Ivanova  
Executive Secretary — Marina A. Kosycheva

The Journal is registered by the Federal Service for Supervision in the Sphere of Communication, Information Technologies and Mass Media. The Mass Media Registration Certificate PI No FS77–71128 dated September 22, 2017.

The Journal is included in the «List of Russian peer-reviewed scientific journals in which the main scientific results of dissertations for the academic degrees of a doctor and candidate of sciences should be published» according to the groups of specialties:

- 4.3.5. Biotechnology of food and biologically active substances (technical sciences) — from 01.02.2022
- 2.3.3. Automation and control of technological processes and productions (technical sciences) — from 15.02.2023
- 4.1.4. Gardening, vegetable growing, viticulture and medicinal crops (biological sciences) — from 15.02.2023
- 4.1.4. Horticulture, vegetable growing, viticulture and medicinal crops (technical sciences) — from 15.02.2023
- 4.1.4. Horticulture, vegetable growing, viticulture and medicinal crops agricultural sciences) — from 15.02.2023
- 4.3.1. Technologies, machinery and equipment for the agro-industrial complex (technical sciences) — from 15.02.2023
- 4.3.1. Technologies, machinery and equipment for the agro-industrial complex (agricultural sciences) — from 15.02.2023
- 4.3.3. Food systems (biological sciences) — from 15.02.2023
- 4.3.3. Food systems (technical sciences) — from 15.02.2023

## CONTACTS:

11 Volokolamskoe Highway, Moscow, 125080, Russian Federation  
Tel. +7 (499) 750–01–11\*6585

E-mail: [info@spfp-mgupp.ru](mailto:info@spfp-mgupp.ru)

Founder website: [mgupp.ru](http://mgupp.ru)

Journal website: [spfp-mgupp.ru](http://spfp-mgupp.ru)

Printed by LLC “Prospect Publishing House”  
121471, Moscow, Ryabinovaya Street, 51-A, Bldg. 1.

Format 60×84 1/8. Seal offset. Offset paper. 500 copies.  
Signed in print 30.12.2023. Free price.

© Russian Biotechnological University  
(BIOTECH University), 2023

# РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

## Главный редактор

**ДАНИЛЬЧУК ТАТЬЯНА НИКОЛАЕВНА** — доктор технических наук, директор института прикладной биотехнологии имени академика РАН И.А. Рогова, Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), г. Москва, Российская Федерация

## Члены редакционного совета коллегии:

<b>Аксёнова</b> Лариса Михайловна	доктор технических наук, профессор, академик РАН, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, г. Москва, Российская Федерация
<b>Акулич</b> Александр Васильевич	доктор технических наук, профессор, заслуженный изобретатель Республики Беларусь, Белорусский государственный университет пищевых и химических технологий, г. Могилев, Республика Беларусь
<b>Аль-Наддаф</b> Лина	PhD (биотехнология и молекулярная биология), Университет Аль-Баас, г. Хомс, Сирийская Арабская Республика
<b>Андреев</b> Николай Руфеевич	доктор технических наук, член-корреспондент РАН, ВНИИ крахмалопродуктов — филиал ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, г. Москва, Российская Федерация
<b>Ахремчик</b> Олег Леонидович	доктор технических наук, профессор кафедры автоматизации технологических процессов, Тверской государственный технический университет, г. Тверь, Российская Федерация
<b>Баскаков</b> Иван Васильевич	доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, г. Воронеж, Российская Федерация
<b>Битюков</b> Виталий Ксенофонович	доктор технических наук, профессор, Заслуженный деятель науки РФ, Воронежский государственный университет инженерных технологий, г. Воронеж, Российская Федерация
<b>Благовещенская</b> Маргарита Михайловна	доктор технических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), г. Москва, Российская Федерация
<b>Боронтов</b> Олег Константинович	доктор сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы им. А.Л. Мазлумова, г. Воронеж, Российская Федерация
<b>Гинс</b> Мурат Сабирович	доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, Федеральный научный центр овощеводства, г. Москва, Российская Федерация
<b>Горлов</b> Иван Федорович	доктор сельскохозяйственных наук, академик РАН, Поволжский НИИ производства и переработки мясомолочной продукции, г. Волгоград, Российская Федерация
<b>Гудковский</b> Владимир Александрович	доктор сельскохозяйственных наук, профессор академик РАН, Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина, г. Мичуринск, Российская Федерация
<b>Добровольский</b> Виктор Францевич	доктор технических наук, НИИ пищевых концентратной промышленности и специальной пищевой технологии — филиал ФИЦ питания и биотехнологии, г. Москва, Российская Федерация
<b>Донник</b> Ирина Михайловна	доктор биологических наук, профессор, академик РАН, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», г. Москва, Российская Федерация
<b>Ильина</b> Ирина Анатольевна	доктор технических наук, Северокавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, г. Краснодар, Российская Федерация
<b>Калашникова</b> Елена Анатольевна	доктор биологических наук, профессор, РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, г. Москва, Российская Федерация
<b>Коденцова</b> Вера Митрофановна	доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник Федерального исследовательского центра питания и биотехнологий, г. Москва, Российская Федерация
<b>Копусь</b> Михаил Мефодьевич	доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Аграрный научный центр «Донской», Центр фундаментальных научных исследований, г. Зерноград, Российская Федерация
<b>Короткий</b> Игорь Алексеевич	доктор технических наук, профессор, Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Российская Федерация
<b>Косован</b> Анатолий Павлович	доктор экономических наук, академик РАН, НИИ хлебопекарной промышленности, г. Москва, Российская Федерация
<b>Красуля</b> Ольга Николаевна	доктор технических наук, профессор, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва, Российская Федерация
<b>Кульнева</b> Надежда Григорьевна	доктор технических наук, профессор, Воронежский государственный университет инженерных технологий, г. Воронеж, Российская Федерация
<b>Левшин</b> Александр Григорьевич	доктор технических наук, профессор, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва, Российская Федерация
<b>Лисицын</b> Александр Николаевич	доктор технических наук, ВНИИ жиров, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

<b>Лисицын</b> Андрей Борисович <b>Мелешкина</b> Елена Павловна	доктор технических наук, академик РАН, Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, г. Москва, Российская Федерация доктор технических наук, ВНИИ зерна и продуктов его переработки — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, г. Москва, Российская Федерация
<b>Неверов</b> Евгений Николаевич	доктор технических наук, профессор, Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Российская Федерация
<b>Никитюк</b> Дмитрий Борисович	доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор, Федеральное исследовательское центр питания и биотехнологии, г. Москва, Российская Федерация
<b>Никифоров-Никишин</b> Алексей Львович	доктор биологических наук, профессор, Московский государственный университет технологий и управления им. К.Г. Разумовского, г. Москва, Российская Федерация
<b>Оганесянц</b> Лев Арсенович	доктор технических наук, академик РАН, ВНИИ пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности — филиал ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, г. Москва, Российская Федерация
<b>Ожерельев</b> Виктор Николаевич	доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Брянский государственный аграрный университет, г. Брянск, Российская Федерация
<b>Оробинский</b> Владимир Иванович	доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, г. Воронеж, Российская Федерация
<b>Пасынкова</b> Елена Николаевна	доктор биологических наук, Федеральный исследовательский центр картофеля им. А.Г. Лорха, филиал Ленинградский научно-исследовательский институт сельского хозяйства «Белогорка», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация
<b>Панфилов</b> Виктор Александрович	доктор технических наук, академик РАН, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва, Российская Федерация
<b>Петров</b> Андрей Николаевич	доктор технических наук, академик РАН, ВНИИ технологии консервирования — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, г. Москва, Российская Федерация
<b>Подвигина</b> Ольга Анатольевна	доктор сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова, г. Воронеж, Российская Федерация
<b>Ражабов</b> Тошпулот Файзуллоевич	PhD, Самаркандский государственный университет имени Шарофа Рашидова, г. Самарканд, Республика Узбекистан
<b>Савина</b> Ольга Васильевна	доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева, г. Рязань, Российская Федерация
<b>Сагян</b> Ашот Серобович	академик, доктор химических наук, профессор, президент Национальной Академии наук Республики Армения, Республика Армения
<b>Симоненко</b> Сергей Владимирович	доктор технических наук, НИИ детского питания — филиал Федерального исследовательского центра питания и биотехнологии, г. Истра, Российская Федерация
<b>Стогниенко</b> Ольга Ивановна	доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова, г. Воронеж, Российская Федерация
<b>Титов</b> Евгений Иванович	доктор технических наук, академик РАН, Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), г. Москва, Российская Федерация
<b>Тихомирова</b> Наталья Александровна	доктор технических наук, профессор, Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), г. Москва, Российская Федерация
<b>Тужилкин</b> Вячеслав Иванович	доктор технических наук, член-корреспондент РАН, Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), г. Москва, Российская Федерация
<b>Тутельян</b> Виктор Александрович	доктор медицинских наук, академик РАН, профессор, Федеральное исследовательское центр питания и биотехнологии, г. Москва, Российская Федерация
<b>Ульрих</b> Наташа Поклар	PhD (биохимия), профессор, Университет Любляны, г. Любляна, Словения
<b>Уша</b> Борис Вениаминович	доктор ветеринарных наук, академик РАН, Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), г. Москва, Российская Федерация
<b>Харитонов</b> Владимир Дмитриевич	доктор технических наук, академик РАН, ВНИИ молочной промышленности, г. Москва, Россия, Российская Федерация
<b>Храмцов</b> Андрей Георгиевич	доктор технических наук, академик РАН, Северо-Кавказский федеральный университет, г. Ставрополь, Российская Федерация
<b>Шингисов</b> Азрет Утебаевич	доктор технических наук, профессор, член-корреспондент Академии естественных наук РФ, Южно-Казахстанский университет им. М. Ауэзова, г. Шымкент, Республика Казахстан
<b>Щетинин</b> Михаил Павлович	доктор технических наук, профессор, Международная промышленная академия, г. Москва, Российская Федерация

# EDITORIAL COUNCIL

## Editor-in-Chief

**TATIANA N. DANILCHUK** – Doctor of Technical Sciences, Director of the Institute of Applied Biotechnology named after academician I.A. Rogov, Russian Biotechnological University (BIOTECH University), Moscow, Russian Federation

## Members of the Editorial Board:

<b>Larisa M. Aksyonova</b>	Doctor of Science (Engineering), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Federal Research Centre of Food Systems named after V.M. Gorbатов, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
<b>Alexander V. Akulich</b>	Doctor of Science (Engineering), Honoured Inventor of the Republic of Belarus, Professor, Belarusian State University of Food and Chemical Technologies, Mogilev, Republic of Belarus
<b>Lina Alnaddaf</b>	PhD in Biotechnology and Molecular Biology, Albaath University, Homs, Syrian Arab Republic
<b>Nikolay R. Andreev</b>	Doctor of Science (Engineering), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, All-Russian Research Institute of Starch — branch of the Federal Research Centre of Food Systems named after V.M. Gorbатов, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
<b>Oleg L. Akhremchik</b>	Doctor of Science (Engineering), Professor, Tver State Technical University, Tver, Russian Federation
<b>Ivan V. Baskakov</b>	Doctor of Science (Agriculture), Professor, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Voronezh, Russian Federation
<b>Vitaliy K. Bitukov</b>	Doctor of Science (Engineering), Professor, Honored Science Worker of the Russian Federation, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russian Federation
<b>Margarita M. Blagoveshchenskaya</b>	Doctor of Science (Engineering), Professor, Honored Science Worker of the Russian Federation, Russian Biotechnological University, Moscow, Russian Federation
<b>Oleg K. Borontov</b>	Doctor of Science (Agriculture), Leading Researcher, A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar, Voronezh, Russian Federation
<b>Murat S. Gins</b>	Doctor of Science (Biology), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Federal Research Centre for Vegetable Growing, Moscow Region, Russian Federation
<b>Ivan F. Gorlov</b>	Doctor of Science (Agriculture), Academician of the Russian Academy of Sciences, Povolzhskiy Research Institute of Production and Processing of Meat and Dairy Products, Volgograd, Russian Federation
<b>Vladimir A. Gudkovskiy</b>	Doctor of Science (Agriculture), Academician of the Russian Academy of Sciences, Federal Research Centre named after I.V. Michurin, Michurinsk, Russian Federation
<b>Viktor F. Dobrovoilskiy</b>	Doctor of Science (Engineering), Research Institute of Food Concentrates Industry and Special Food Technology - branch of the Federal Research Centre for Nutrition and Biotechnology, Moscow, Russian Federation
<b>Irina M. Donnik</b>	Doctor of Science (Biology), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, National Research Institute «Kurchatov Institute», Moscow, Russian Federation
<b>Irina A. Ilina</b>	Doctor of Science (Engineering), North Caucasian Federal Research Centre of Horticulture, Viticulture, Winemaking, Krasnodar, Russian Federation
<b>Elena A. Kalashnikova</b>	Doctor of Science (Biology), Professor, Russian State Agrarian University-Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, Moscow, Russian Federation
<b>Vera M. Kodentsova</b>	Doctor of Science (Biology), Professor, Leading Researcher, Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russian Federation
<b>Mikhail M. Kopus</b>	Doctor of Science (Biology), Leading Researcher, Agrarian Research Centre «Donskoy», Centre for Fundamental Scientific Research, Zernograd, Russian Federation
<b>Igor A. Korotkiy</b>	Doctor of Science (Engineering), Professor, Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation
<b>Anatoliy P. Kosovan</b>	Doctor of Economics, Academician of the Russian Academy of Sciences, State Research Institute of Baking Industry, Moscow, Russian Federation
<b>Olga N. Krasulya</b>	Doctor of Science (Engineering), Russian State Agrarian University-Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, Moscow, Russian Federation
<b>Nadezhda G. Kulneva</b>	Doctor of Science (Engineering), Professor, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russian Federation
<b>Alexander G. Levshin</b>	Doctor of Science (Engineering), Professor, Russian State Agrarian University-Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, Moscow, Russian Federation

<b>Aleksander N. Lisitsyn</b>	Doctor of Science (Engineering), All-Russian Research Institute of Fats, St. Petersburg, Russian Federation
<b>Andrey B. Lisitsyn</b>	Doctor of Science (Engineering), Academician of the Russian Academy of Sciences, Federal Research Centre of Food Systems named after V.M. Gorbатов of the Russian Academy of Science, Moscow, Russian Federation
<b>Elena P. Meleshkina</b>	Doctor of Science (Engineering), All-Russian Research Institute of Grain and Products of Its Processing — branch of the Federal Research Centre of Food Systems named after V.M. Gorbатов, Russian Academy of Science, Moscow, Russian Federation
<b>Eugeniy N. Neverov</b>	Doctor of Science (Engineering), professor, Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation
<b>Dmitry B. Nikityuk</b>	Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Federal Research Centre for Nutrition and Biotechnology, Moscow, Russian Federation
<b>Aleksey L. Nikiforov-Nikishin</b>	Doctor of Science (Biology), Professor, Razumovsky Moscow State University of Food Production, Russian Federation
<b>Lev A. Oganesyants</b>	Doctor of Science (Engineering), Academician of the Russian Academy of Sciences, All-Russian Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industries — branch of the Federal Research Centre of Food Systems named after V.M. Gorbатов, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
<b>Viktor N. Ozherelev</b>	Doctor of Science (Agriculture), Professor of Bryansk State Agricultural University, Bryansk, Russian Federation
<b>Vladimir I. Orbinsky</b>	Doctor of Science (Agriculture), Professor, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Voronezh, Russian Federation
<b>Elena N. Pasyunkova</b>	Doctor of Science (Biology), Federal Research Centre for Potato named after A.I. A.G. Lorkha, branch of the Leningrad Research Institute of Agriculture «Belogork», St. Petersburg, Russian Federation
<b>Viktor A. Panfilov</b>	Doctor of Science (Engineering), Academician of the Russian Academy of Sciences, Russian State Agrarian University-Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, Moscow, Russian Federation
<b>Andrey N. Petrov</b>	Doctor of Science (Engineering), Academician of the Russian Academy of Sciences, All-Russian Research Institute of Technology Canning — branch of the Federal Research Centre of Food Systems named after V.M. Gorbatoва, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
<b>Olga A. Podvigina</b>	Doctor of Science (Agriculture), Leading Researcher, A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar, Voronezh, Russian Federation
<b>Toshpulot F. Rajabov</b>	PhD, Sharof Rashidov Samarkand State University, Samarkand, Uzbekistan
<b>Olga V. Savina</b>	Doctor of Science (Agriculture), Professor, Ryazan State Agrotechnological University named after P.A. Kostychev, Ryazan, Russian Federation
<b>Ashot S. Saghyan</b>	Academician, Doctor of Chemistry, Professor, National Academy of Sciences of the Republic of Armenia, Republic of Armenia
<b>Sergey V. Simonenko</b>	Doctor of Science (Engineering), Research Institute of Baby Nutrition — branch of the Federal Research Centre for Nutrition and Biotechnology, Istra, Russian Federation
<b>Olga I. Stognienko</b>	Doctor of Science (Biology), Leading Researcher, A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar, Voronezh, Russian Federation
<b>Evgeny I. Titov</b>	Doctor of Science (Engineering), Academician of the Russian Academy of Sciences, Russian Biotechnological University, Moscow, Russia Russian Federation
<b>Natalia A. Tikhomirova</b>	Doctor of Science (Engineering), Professor, Russian Biotechnological University, Moscow, Russian Federation
<b>Vyacheslav I. Tuzhilkin</b>	Doctor of Science (Engineering), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Russian Biotechnological University, Moscow, Russian Federation
<b>Victor A. Tutelyan</b>	Doctor of Medicine, Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, Federal Research Centre for Nutrition and Biotechnology, Moscow, Russian Federation
<b>Natasa Poklar Ulrih</b>	PhD, Professor of Biochemistry, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia
<b>Boris V. Usha</b>	Doctor of Science (Veterinary), Academician of the Russian Academy of Sciences, Russian Biotechnological University, Moscow, Russian Federation
<b>Vladimir D. Kharitonov</b>	Doctor of Science (Engineering), Academician of the Russian Academy of Sciences, All-Russian Research Institute of Dairy Industry, Moscow, Russian Federation
<b>Andrey G. Khramtsov</b>	Doctor of Science (Engineering), Academician of the Russian Academy of Sciences, North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russian Federation
<b>Azret U. Shingisov</b>	Doctor of Engineering, Professor, ), Corresponding Member of the Russian Academy of Natural Sciences, Auezov University, Shymkent, Kazakhstan
<b>Mikhail P. Schetinin</b>	Doctor of Science (Engineering), Professor, International Industrial Academy, Moscow, Russian Federation



# СОДЕРЖАНИЕ

## ОТ РЕДАКТОРА

**Е. В. Тихонова**

Межличностные стратегии академического письма: значимость признания ограничений исследования и рекомендаций для будущих исследований в научном дискурсе . . . . . 8

## ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ХРАНЕНИЯ И ПЕРЕРАБОТКИ СЕЛЬХОЗПРОДУКЦИИ

**А. Альхаир, Е. А. Щукина, М. И. Губанова, И. А. Кириш, А. М. Ермилова, И. С. Тверитникова**

Разработка активного упаковочного материала на основе крахмала с использованием в качестве антимикробной добавки масляного экстракта гвоздики . . . . . 16

## ФИЗИЧЕСКИЕ И ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ПЕРЕРАБОТКИ СЕЛЬХОЗПРОДУКЦИИ

**У. Ч. Чоманов, Г. Е. Жумалиева, Г. С. Актокалова, Г. Т. Жумалиева, Д. Б. Муратханов, М. А. Идаятова**

Получение соков на основе арбуза с высоким содержанием питательных веществ . . . . . 32

**Л. Б. Умиральева, Н. Л. Танькова, М. С. Амангельдин, А. Т. Ибраихан, Р. К. Макеева, С. М. Бармак**

Анализ биологически активных веществ пчелиного маточного молочка и коровьего молозива с целью создания комплексной биологически активной добавки . . . . . 45

**В. А. Максименко**

Экспериментальная оценка значимости влияния переменного низкочастотного магнитного поля на образование кристаллов льда применительно к биологическим субстанциям . . . . . 61

## БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

**Т. Ю. Кондратенко, В. В. Кондратенко, М. Н. Курбанова, Л. К. Пацюк**

Ультразвуковая кавитация и её потенциальное влияние на микрофлору . . . . . 75

**Ю. Р. Серазетдинова, Н. В. Фотина, Л. К. Асякина, И. С. Миленьева, А. Ю. Просеков**

Ризобактерии для снижения биотического стресса яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), вызванного фитопатогенными грибами . . . . . 98

## ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ, МАШИНЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

**Э. Д. Шибанов, И. Г. Благовещенский, Е. А. Назойкин**

Визуальная оценка состояния шоколадной массы при помощи системы технического зрения . . . . . 114

## СЫРЬЕ И ДОБАВКИ

**Т. А. Сенотрусова, Т. А. Ершова, Н. Г. Ли, В. А. Лях, Г. В. Медведев**

Перспективы использования сывороточного изолята в технологии сухих смесей для специализированного питания . . . . . 125

**Л. В. Коннова, П. А. Агеева, Л. В. Трошина**

Характеристика приоритетных свойств узколистного люпина для использования в пищевой промышленности . . . . . 135

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ ПРОДУКЦИИ АПК

**А. Л. Никитин, М. А. Макаркина**

Влияние метеоусловий вегетационного периода, степени зрелости и температурных режимов хранения на лежкость и качество плодов новых сортов яблони селекции ВНИИСПК . . . . . 145

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВТОРИЧНЫХ РЕСУРСОВ И НОВЫХ ВИДОВ СЫРЬЯ

**А. А. Мещеряков, В. Ю. Ситнов, Д. С. Рябухин**

Влияние тяжелых металлов на перспективы использования личинок *Hermetia illucens* для переработки отходов: обзор предметного поля . . . . . 165

**В. И. Воробьев, О. П. Чернега, Ю. А. Фатыхов, Т. В. Сафронова, Е. В. Нижникова**

Влияние коллагенсодержащих добавок полученных из покровных тканей рыб на качественные характеристики хлеба . . . . . 175

# CONTENT

## EDITORIAL

**Elena V. Tikhonova**

Interpersonal Strategies in Academic Writing: The Significance of Acknowledging Research Limitations and Recommendations for Future Studies in Scientific Discourse ..... 8

## THEORETICAL ASPECTS OF FARM PRODUCTS STORAGE AND PROCESSING

**Ali Alkhair, Ekaterina A. Shchukina, Marina I. Gubanova, Irina A. Kirsh, Alexandra M. Ermilova, Isabella S. Tveritnikova**

Development of an Active Starch-Based Packaging Material Using Clove Oil Extract as an Antimicrobial Additive ..... 16

## PHYSICAL AND CHEMICAL METHODS OF FARM RAW MATERIAL PROCESSING

**Urishbai C. Chomanov, Gulzhan Y. Zhumaliyeva, Gulnara S. Aktokalova, Gaziza T. Zhumaliyeva, Dulat B. Muratkhanov, Marzhan A. Idayatova**

Production of Nutrient-Rich Watermelon-Based Juices ..... 32

**Lazat B. Umiraeva, Nina L. Tankova, Marat S. Amangeldin, Akniet T. Ibraikhan, Rauhan K. Makeeva, Sabyrkhan M. Barmak**

Analysis of Biologically Active Substances in Bee Royal Jelly and Bovine Colostrum for the Creation of a Complex Biologically Active Supplement ..... 45

**Vladimir A. Maksimenko**

Experimental Evaluation of the Significance of the Influence of Variable Low-Frequency Magnetic Field on Ice Crystal Formation in Relation to Biological Substances ..... 61

## BIOTECHNOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL ASPECTS

**Tatyana Yu. Kondratenko, Vladimir V. Kondratenko, Madina N. Kurbanova, Lyubov K. Patsyuk**

Ultrasonic Cavitation and Its Potential Impact on Microflora: A Systematic Scoping Review ..... 75

**Yuliya R. Serazetdinova, Natalya V. Fotina, Lyudmila K. Asyakina, Irina S. Milentyeva, Alexander Yu. Prosekov**

Rhizobacteria for Reducing Biotic Stress in Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.) Caused by Phytopathogenic Fungi ..... 98

## TECHNOLOGICAL PROCESSES, MACHINES AND EQUIPMENT

**Eduard D. Shibanov, Ivan G. Blagoveshchensky, Evgeny A. Nazoykin**

Visual Assessment of the State of the Chocolate Mass Using a Vision System ..... 114

## RAW MATERIALS AND ADDITIVES

**Tamara A. Senotrusova, Tatyana A. Ershova, Natalia G. Li, Vladimir A. Lyakh, Georgy V. Medvedev**

Prospects of Using Whey Isolate in the Technology of Dry Mixes for Specialized Nutrition ..... 125

**Lubov' V. Konnova, Praskov'ya A. Ageeva, Larisa V. Troshina**

Characteristics of Priority Properties of Narrow-Leaf Lupine for Use in the Food Industry ..... 135

## CONTROL OVER QUALITY AND SAFETY OF AGRIBUSINESS PRODUCTS

**Andrey L. Nikitin, Margarita A. Makarkina**

Influence of the Weather Conditions of the Growing Season, Degree of Maturity and Temperature Regimes Storage on the Keeping Quality and Fruit Quality of New Apple Cultivars Bred by VNIISPK ..... 145

## USING SECONDARY RESOURCES AND NEW TYPES OF RAW MATERIALS

**Anatolii A. Meshcheriakov, Veniamin Y. Sitnov, Dmitry S. Ryabukhin**

The Impact of Heavy Metals on the Prospects of Using *Hermetia illucens* Larvae for Waste Processing: A Scoping Review ..... 165

**Viktor I. Vorobev, Olga P. Chernega, Yuri A. Fatykhov, Tatiana V. Safronova, Elena V. Nizhnikova**

Influence of Collagen-Containing Additives Obtained from Integumentary Tissues of Fish on the Quality Characteristics of Bread ..... 175

# Межличностные стратегии академического письма: значимость признания ограничений исследования и рекомендаций для будущих исследований в научном дискурсе

Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы,  
г. Москва, Российская Федерация

## КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Тихонова Елена Викторовна  
E-mail: etihonova@gmail.com

## ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

## ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Тихонова, Е.В. (2023). Межличностные стратегии академического письма: значимость признания ограничений исследования и рекомендаций для будущих исследований в научном дискурсе. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 8-15. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.526>

ПОСТУПИЛА: 01.11.2023

ПРИНЯТА: 15.12.2023

ОПУБЛИКОВАНА: 30.12.2023

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

автор сообщает об отсутствии конфликта интересов.



Е. В. Тихонова

## АННОТАЦИЯ

**Введение:** Описание ограничений текущего исследования и рекомендаций для дальнейших исследований по теме в оригинальных и обзорных исследованиях являются обязательным шагом, демонстрирующим критическую самооценку и уровень экспертности автора. Чтобы подтвердить свой вклад в уже существующее знание в предметной области, ученые должны продемонстрировать методологическую строгость и критическое понимание характера знания в своей области. Принципиальную важность на этапе реализации этого шага приобретает языковое воплощение.

**Цель:** исследовать роль межличностных стратегий академического письма в контексте признания ограничений исследования и формулирования рекомендаций для будущих исследований.

**Материалы и методы:** Исследование базируется на анализе статей в области сельскохозяйственных наук, опубликованных с 2020 по 2023 гг., с применением методов жанрового и корпусного анализа.

**Результаты:** Описаны стратегии, с помощью которых авторы научных работ обсуждают свои исследования, демонстрируя критическое осмысление и стремление к прозрачности в представлении результатов. Особое внимание в статье уделено различным межличностным языковым стратегиям, таким как использование оценочных фраз, отрицание и модальных глаголов, в контексте обсуждения ограничений исследования и рекомендаций для будущих исследований. Авторы подчеркивают важность таких стратегий для установления доверительных отношений с читателями и демонстрации научной строгости. В статье также обсуждаются метадискурсивные и текстовые ссылки, которые помогают авторам представлять ограничения и рекомендации как неотъемлемую часть академического исследовательского процесса.

**Выводы:** Исследование подчеркивает взаимосвязь между секциями ограничений исследований и рекомендаций для будущих исследований в академическом письме, показывая, что качество одной секции напрямую влияет на качество другой. Это взаимодействие способствует развитию научного диалога и конструктивного обсуждения в академическом сообществе. Статья вносит значимый вклад в понимание того, как улучшение одной из этих секций может усилить эффективность и значимость другой, предоставляя ценные рекомендации для исследователей, особенно для тех, кто использует английский как второй язык, в их стремлении к совершенствованию навыков написания и публикации научных работ.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

академическое письмо; ограничения исследования; рекомендации для будущих исследований; межличностные стратегии; научный дискурс



# Interpersonal Strategies in Academic Writing: The Significance of Acknowledging Research Limitations and Recommendations for Future Studies in Scientific Discourse

RUDN University, Moscow, Russian Federation

Elena V. Tikhonova

## CORRESPONDENCE:

Elena V. Tikhonova

E-mail: etihonova@gmail.com

## DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

## FOR CITATIONS:

Tikhonova, E. V. (2023). Interpersonal strategies in academic writing: The significance of acknowledging research limitations and recommendations for future studies in scientific discourse. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 8-15. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.526>

RECEIVED: 01.11.2023

ACCEPTED: 15.12.2023

PUBLISHED: 30.09.2023

## DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.



## ABSTRACT

**Introduction:** Describing the limitations of current research and recommendations for further studies in original and review papers is a mandatory step, demonstrating critical self-assessment and the author's level of expertise. To affirm their contribution to existing knowledge in a subject area, scholars must demonstrate methodological rigor and critical understanding of the nature of knowledge in their field. Linguistic embodiment becomes fundamentally important in implementing this step.

**Purpose:** To explore the role of interpersonal strategies in academic writing in the context of acknowledging research limitations and formulating recommendations for future studies.

**Materials and Methods:** The study is based on the analysis of articles in the field of agricultural sciences, published over the last three years, using genre and corpus analysis methods.

**Results:** The strategies authors of scientific papers use to discuss their research are described, demonstrating critical reflection and a commitment to transparency in presenting results. Particular attention in the article is given to various interpersonal linguistic strategies, such as the use of evaluative phrases, negation, and modal verbs, in the context of discussing research limitations and recommendations for future studies. The authors emphasize the importance of such strategies for establishing trustful relationships with readers and demonstrating scientific rigor. The article also discusses metadiscursive and textual references, which help authors present limitations and recommendations as an integral part of the academic research process.

**Conclusion:** The study underscores the interconnection between the sections on research limitations and recommendations for future studies in academic writing, showing that the quality of one section directly influences the quality of the other. This interaction fosters the development of scientific dialogue and constructive discussion within the academic community. The article makes a significant contribution to understanding how improving one of these sections can enhance the effectiveness and significance of the other, providing valuable recommendations for researchers, especially those who use English as a second language, in their quest to improve their writing and publishing skills.

## KEYWORDS

academic writing; research limitations; recommendations for future studies; interpersonal strategies; scientific discourse

## ВВЕДЕНИЕ

Умение авторского коллектива обосновать ограничения своего исследования воспринимается научным сообществом как критический анализ собственной методологии и стремление избежать некорректной интерпретации представляемых результатов. Критическое осмысление потенциально слабых мест исследования позволяет авторам сформулировать рекомендации относительно направлений будущих исследований по исследуемой проблематике. Подобные комментарии могут касаться комментирования исследовательских вопросов, методологии исследования, размера и характеристик выборки. Такое осмысление проведенного исследования является основой построения диалога между авторами текущего исследования и их коллегами, работающими в той же предметной области.

Хотя обычно описание ограничений исследования и рекомендации относительно направления и характера дальнейших исследований по теме рассматриваются как самостоятельные риторические шаги в теле статьи, по сути, они неотделимы друг от друга и играют значимую роль в позиционировании автора и его научного потенциала. При этом оба шага эффективно работают только в ситуации наличия в рукописи авторского голоса. Последний строится на базе развитых навыков академического письма (Loghmani et al., 2020; Raitskaya & Tikhonova, 2022).

Стратегии межличностного дискурса при описании ограничений исследования, где авторы не только указывают на ограничения своих выводов, методов или утверждений, но также компенсируют потенциальные недостатки, обосновывая свои выборы и указывая, что уже были предприняты определенные меры для нивелирования влияния этих ограничений на достоверность результатов (Koutsantoni, 2006). Иными словами, описывая ограничения исследования, авторы обычно озвучивают проблемы, чтобы казаться самокритичными, одновременно демонстрируя научную строгость и академические качества (Griner, 2018; Swales & Feak, 2012).

Целью данной статьи является исследование роли межличностных стратегий академического письма в контексте признания ограничений исследования и формулирования рекомендаций для будущих исследований.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования основывается на методологии, описанной в исследованиях Montgomery (2023) и Sun & Crosthwaite (2022).

### Отбор данных

Для данного исследования была проведена комплексная выборка научных статей из различных академических журналов в области сельскохозяйственных наук. Исследование охватило статьи, опубликованные с 2020 по 2023 гг. Выборка была сосредоточена на статьях, которые включали обсуждение ограничений исследования и рекомендаций для будущих исследований.

### Анализ жанров

Был применен жанровый анализ для изучения структурных и риторических особенностей обсуждаемых секций. Это включало анализ различий в представлении ограничений и рекомендаций в различных научных журналах.

### Корпусный анализ

Используя корпусный подход, были собраны и анализированы данные из выбранных статей. Ключевой фокус был направлен на межличностные языковые стратегии, такие как оценочные фразы, отрицание и употребление модальных глаголов.

### Рамки оценки (P-frames)

Исследование включало анализ рамок оценки (P-frames), чтобы определить, как авторы используют различные языковые структуры для выражения ограничений и предложений по будущим исследованиям.

### Этические соображения

Все анализируемые данные были получены из публично доступных источников, и были соблюдены все соответствующие этические стандарты в отношении авторских прав и конфиденциальности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Характеристики описания ограничения исследования

Принципиально важным шагом является умение прямо и без опасений представлять ограничения описываемого в статье исследования с целью подтверждения прозрачности его проведения. Собственная конструктивная критика на исследование демонстрирует научному сообществу, что автор понимает в полной мере потенциальные проблемы, связанные с результатами исследования, что существенным образом снижает градус потенциальной критики (Paltridge & Starfield, 2020), обосновывает выбор автора и минимизирует любое влияние ограничений на достоверность полученных результатов.

Например, *‘Представленное исследование имеет определенные ограничения. Одним из них является сравнительно малый объем выборки участников. Для более точного и обобщающего анализа эффектов использования применяемой в исследовании методики фокус-интервью необходимо увеличить количество участников’*.

### Стратегии описания ограничений исследования

В этой связи широко используются различные межличностные стратегии (включая уклончивые выражения, контрастные связи, авторские ссылки) в разделах «ограничения».

- (1) Использование отрицания, как маркера оговорки в рамках оценочной системы. Такой подход создает определенный характер отношений между автором / авторами и читателем (Martin & White, 2005).

Например, *‘Не следует игнорировать тот факт, что ограниченный объем выборки в данном исследовании может влиять на обобщаемость результатов. Однако, несмотря на это ограничение, результаты представляют значимый вклад в понимание изучаемого явления’*.

В этом примере, использование отрицания *‘не следует игнорировать’* и *‘несмотря на это’* позволяет

автору одновременно признать ограничения исследования и подчеркнуть его значение, тем самым устанавливая доверительные отношения с читателем. Использование отрицания как маркера оговорки демонстрирует критический подход автора к своей работе и его готовность открыто обсуждать ее потенциальные недостатки.

Для минимизации риска потери достоверности исследования авторы часто используют в своих текстах отрицание, сочетая его с различными средствами оценки. Например, конструкции типа *‘не... а’* и *‘потому что... нет’* позволяют более тонко подходить к представлению ограничений исследования. Использование таких фраз как *‘не просто ограничение, а возможность для дальнейшего изучения’* или *‘наши выводы могут быть не окончательными, потому что не учтены все факторы’* помогает авторам балансировать между признанием ограничений и поддержанием научной достоверности. Это демонстрирует глубокое понимание автором своей темы и стремление к обоснованности и точности в исследовательской работе. Такой подход также позволяет читателям более полно оценить глубину и комплексность исследования, учитывая все аспекты и нюансы, представленные автором. Это важно для развития научного дискурса, где критический анализ и рефлексия являются ключевыми элементами продвижения знаний.

- (2) Использование «было бы» для указания ограничений позволяет компенсировать их, представляя гипотетический возможность (Flowerdew, 2015).

Например, *‘Хотя наше исследование предоставляет значимые данные, было бы полезно расширить выборку для усиления обобщаемости результатов. Например, было бы целесообразно включить большее количество участников из различных географических регионов, что позволило бы более глубоко исследовать региональные различия в изучаемом феномене’*.

Или *‘Дизайн текущего исследования был бы более объективным, если бы детальные итоговые результаты были полностью валидированы при помощи математической статистики, но это крайне сложная задача в контексте ...’*

- (3) Стратегическое использование контрастных связей, позволяющее манипулировать реакцией читателей (Wallwork, 2016).

Например:

*‘Хотя данное исследование не включало обширную выборку, тем не менее, оно предоставляет ценные первоначальные данные для будущих, более масштабных исследований’.*

Контрастная связка ‘хотя’ и ‘тем не менее’ позволяет смягчить восприятие ограничения, подчеркивая, что, несмотря на ограниченный объем выборки, исследование все же способно предоставить значимые выводы и направления для дальнейших исследований.

Или

*‘Ограничением этой статьи является то, что два эксперимента, к сожалению, не проводились в один и тот же период. Это повлияет на наши результаты в плане ...’* Этот пример сообщает об ограничении субъективным, нейтральным способом, создавая ‘наименее негативное’ представление об ограничениях описанного исследования, однако выражая сожаление и признавая потенциальное влияние ограничений на результаты.

Или

*‘Хотя два эксперимента и не проводились в один и тот же период, это повлияет на наши результаты только в плане ...’.* Это утверждение призывает аудиторию безоговорочно принять позицию автора. Здесь используется контрастная связка ‘хотя’ для смягчения влияния ограничений, указывая на то, что, несмотря на несоответствие во времени проведения экспериментов, влияние на результаты будет ограниченным.

- (4) Использование ‘можно предположить, что’, чтобы проиллюстрировать подходящие способы уточнения ограничений, не теряя при этом достоверности (Wallwork, 2016). Этот прием помогает уточнить возможные ограничения исследования, представляя их в контексте предположений или гипотез, что уменьшает воспринимаемую критичность этих ограничений.

Например:

*‘Можно предположить, что, если бы выборка исследования была более репрезентативной, результаты*

*могли бы быть другими. Однако, учитывая текущий объем выборки, наши выводы следует рассматривать с осторожностью’.*

## Демонстрация восприятия авторами представляемых ограничений

- (1) Выражения выделяющие определенные объекты или абстрактные концепции и категории.

Например,

- *‘Необходимо особо подчеркнуть ограничения этого исследования...’.*
- *‘Включение в исследование восприятие исследуемой проблематики начинающими исследователями принесет пользу будущим исследованиям, что выходит за рамки данного исследования...’.*

Эти примеры демонстрируют различные позиции автора. В первом случае ограничения группируются вместе и подаются списком. Второй пример связывает комментирование ограничений с предложением относительно дальнейших исследований по теме. Это распространенный подход, который отражает тесную взаимосвязь между этими двумя элементами, как это описывается в литературе, и подробно обсуждается ниже.

- (2) Формулировка ‘результаты ... исследования подчеркивают необходимость ...’.

Например,

- *‘Результаты текущего исследования подчеркивают необходимость активизации внимания исследователей к ...’.*
- *‘Необходимо реализовать ряд исследований ... для обобщения результатов настоящего исследования’.*

Представленные формулировки демонстрируют различные стратегии авторов. В первом примере автор использует результаты реализованного исследования для дальнейшего сужения фокуса исследования на перспективную новую область. Во втором примере автор рекомендует лишь изменение фокуса, например, изменение участников исследования или его контекст, которые ранее не изучались.

Обе описанные стратегии (использование выражений, выделяющих определенные объекты или аб-

страктные концепции и категории, и формулировки *‘результаты ... исследования подчеркивают необходимость ...’* позволяет авторам прямо и непосредственно описать ограничения, не представляя их как слабое место исследования (Evans et al., 2014).

- (3) Оценочные фразы для выражения суждений. Такие утверждения позволяют автору занять авторитетную позицию, подчеркивая важность определенных аспектов исследования, и усиливают голос автора в теле рукописи.

Например:

- *‘Важно отметить, что данное исследование ограничено данными...’.*
- *‘Кроме того, важно признать, что результаты замеров из трех исследований...’.*

В этих примерах авторы используют оценочные фразы для акцентирования внимания на определенных ограничениях их исследований, тем самым демонстрируя критический подход и глубокое понимание предмета. Это не только усиливает авторитетность автора, но и способствует созданию более прозрачной и объективной научной коммуникации.

- (4) Применение эпистемических утверждений (утверждений, касающихся знаний), например, *‘не без ограничений’* демонстрирует тонкую игру с языком, где используется двойное отрицание для подчеркивания ограничений исследования. Эта риторическая фигура часто сочетается с контрастными выражениями, выделяющими положительные стороны или заслуги работы. Такая конструкция позволяет представить ограничения как неизбежную часть исследовательского процесса, а не как его недостаток или неожиданный исход.

Например:

- *‘Несмотря на значимые результаты, данное исследование не лишено своих ограничений ...’.*
- *‘Помимо достоинств, использованный подход не лишен ограничений’.*

Фраза *‘исследование не лишено ограничений’* используется для честного признания наличия ограничений исследования, одновременно подчеркивая сильные стороны исследования. Такой способ представления ограничений не только прямо-

линеен, но и помогает смягчить любое потенциальное негативное влияние на доверие читателя к исследованию. Связывая признание ограничений с достоинствами исследования, авторы тонко балансируют между критикой и признанием вклада исследования, тем самым поддерживая его целостность и доверие к нему.

- (5) При комментировании направлений будущих исследований в контексте обсуждаемой проблематики, особое значение приобретают оценочные рамки, которые позволяют автору высказать предложения или идеи с определенной степенью уверенности или сомнения (например, использование формулировок *‘было бы целесообразно’*). Эти рамки дают возможность модулировать силу высказывания в зависимости от намерений автора.

Примеры:

- *‘Было бы целесообразно определить, как использование этих реактивов может повлиять на ...’.*
- *‘Прежде всего, было бы целесообразно исследовать, в какой степени использование более агрессивных реактивов привело к ...’.*

Эти формулировки позволяют автору предложить направления для будущих исследований, не вступая в противоречие с уже существующими данными или теориями. В то же время они позволяют оставить пространство для дальнейшего обсуждения и анализа в научном сообществе.

- (6) гибкость оценочных рамок, особенно включающих модальный глагол *‘would’* предоставляют широкий спектр вариантов для утверждения или смягчения позиции автора. Так, выражения *‘было бы интересно исследовать...’* или *‘следует отметить, что...’* позволяют авторам регулировать силу своей оценки в зависимости от контекста и желаемого воздействия.

Например,

- *‘Было бы интересно узнать, как новый метод анализа данных повлияет на точность результатов в области социальных наук.’*
- *‘Нельзя не отметить, что данное исследование ограничено выборкой из одного региона, что может повлиять на обобщаемость результатов.’*



Эти примеры демонстрируют гибкость оценочных рамок. В первом случае использование *‘было бы интересно’* позволяет автору выразить любопытство и предложить новое направление для будущих исследований, не заявляя напрямую о необходимости его проведения. Во втором примере фраза *‘Нельзя не отметить’* служит для акцентирования важности ограничения исследования, при этом не умаляя его значимость. Такой подход позволяет авторам умело балансировать между уверенностью и осторожностью в своих утверждениях.

- (7) Метадискурс и текстовые ссылки, явно указывающие на исследование или его процессы, играя ключевую роль в академическом письме. Например, фразы вроде *‘это исследование не изучало...’* или *‘это исследование не контролировало...’* явно указывают на определенные ограничения, одновременно прямо ссылаясь на само исследование. Такое представление ограничений рассматривает их как ограничения, встроенные в дизайн исследования, а не как недостатки или провалы. Такой подход не только обеспечивает ясность относительно области и границ исследования, но и открывает пути для будущих исследований.

Например,

- *‘Это исследование не рассматривало влияние климатических изменений на урожайность сельскохозяйственных культур. Таким образом, будущие работы могут сосредоточиться на анализе этого аспекта для более полного понимания влияния климата на урожай’*,
- *‘В данной работе не было контроля за условиями хранения урожая после сбора, что может оказать влияние на качество продукции. Дальнейшие исследования могут включать изучение этого фактора для обеспечения целостности данных по сохранности урожая’*.

В данных примерах ограничения сочетаются с рекомендациями для последующих исследований. Этот прием позволяет авторам признавая ограничения своей работы, одновременно предлагать области для дальнейшего изучения, тем самым конструктивно внося вклад в продолжающийся научный диалог.

Межличностные стратегии академического письма играют важную роль в научном дискурсе. Особую значимость они получают в секциях признания ограничений исследования и рекомендаций для будущих исследований. Эти два аспекта представлены в заключительных разделах научных статей, выполняя важную смыслопорождающую функцию (Joseph & Lim, 2019)

Глубинность этих элементов варьируются в зависимости от жанра исследования и журнала публикации (Kwan, 2021). Это разнообразие подчеркивает, что академическое письмо не является статичным или унифицированным (Tikhonova & Raitskaya, 2022), а адаптируется к контексту и риторике автора. В количественных исследованиях эти элементы встречаются чаще, чем в качественных, что может свидетельствовать о различиях в методологических подходах.

Использование оценочных фраз и других межличностных стратегий, таких как управление ‘голосом автора’ и баланс между критической оценкой и подчеркиванием достоинств исследования, является ключевым в представлении этих аспектов. Отсюда, вырастает значимость авторского мастерства в использовании языка для достижения конкретных коммуникативных целей (Montgomery, 2023; Sun & Crosthwaite, 2022).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное исследование подчеркивает важность межличностных стратегий в академическом письме. Особое внимание к признанию ограничений исследования и выработке рекомендаций для будущих исследований не только укрепляет авторитетность и достоверность научного сообщества, но и способствует дальнейшему развитию научного дискурса.

Эти стратегии позволяют авторам умело балансировать между демонстрацией своей критической осведомленности и избеганием чрезмерного акцента на предполагаемых недостатках своих работ. Таким образом, они не только способствуют развитию научного диалога, но и выступают в качестве инструментов для построения продуктивных и конструктивных научных дискуссий.

Результаты нашего исследования также подчеркивают необходимость дальнейших исследований в этой области, особенно в контексте различных дисциплин и методологических подходов. Понимание межличностных стратегий академического

письма поможет новым ученым и исследователям, для которых английский является вторым языком, более эффективно интегрироваться в международное научное сообщество.

## ЛИТЕРАТУРА

- Evans, D., Gruba, P., & Zobel, J. (2014). The Discussion or Interpretation. In *How to write a better thesis*. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-04286-2\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-319-04286-2_9)
- Flowerdew, L. (2015). Using corpus-based research and online academic corpora to inform writing of the discussion section of a thesis. *Journal of English for Academic Purposes*, 20, 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.jeap.2015.06.001>
- Joseph, R., & Lim, J. M. H. (2019). Directions for the future: A genre-based investigation into recommendations for further research and practical applications in Forestry. *ESP Today: Journal of English for Specific Purposes at Tertiary Level*, 7(2), 124–147.
- Greener, S. (2018). Research limitations: The need for honesty and common sense. *Interactive Learning Environments*, 26(5), 567–568. <https://doi.org/10.1080/10494820.2018.1486785>
- Kanoksilapatham, B. (2015). Distinguishing textual features characterizing structural variation in research articles across three engineering sub-discipline corpora. *English for Specific Purposes*, 37, 74–86. <https://doi.org/10.1016/j.esp.2014.06.008>
- Kwan, B. S. C. (2021). Formulating the direction of a study: Variations across three epistemological traditions in Information Systems. *Iberica*, 42, 191–218.
- Loghmani, Z., Ghonsooly, B., & Ghazanfari, M. (2020). Engagement in doctoral dissertation discussion sections written by English native speakers. *Journal of English for Academic Purposes*, 45, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jeap.2020.100851>
- Martin, J. R., & White, P. R. R. (2005). The language of evaluation: Appraisal in English. Palgrave Macmillan.
- Montgomery, D. P. (2023). “This study is not without its limitations”: Acknowledging limitations and recommending future research in applied linguistics research articles. *Journal of English for Academic Purposes*, 65, 101291. <https://doi.org/10.1016/j.jeap.2023.101291>
- Paltridge, B., & Starfield, S. (2020). *Thesis and dissertation writing in a second language* (2nd ed.). Routledge.
- Raitskaya, L., & Tikhonova, E. (2022). An In-Depth Glimpse into Research on Academic Writing. *Journal of Language and Education*, 8(2), 5–17. <https://doi.org/10.17323/jle.2022.14586>
- Sun, S. A., & Crosthwaite, P. (2022). “The findings might not be generalizable”: Investigating negation in the limitations sections of PhD theses across disciplines. *Journal of English for Academic Purposes*, 59, 101155. <https://doi.org/10.1016/j.jeap.2022.101155>
- Swales, J., & Feak, C. (2012). *Academic writing for graduate students: Essential tasks and skills* (3rd ed.). University of Michigan Press.
- Tikhonova, E., & Raitskaya, L. (2022). Academic Development in Research Focus. *Journal of Language and Education*, 8(1), 5–10. <https://doi.org/10.17323/jle.2022.14122>
- Wallwork, A. (2016). *English for writing research papers* (2nd ed.). Springer.

# Разработка активного упаковочного материала на основе крахмала с использованием в качестве антимикробной добавки масляного экстракта гвоздики

Российский биотехнологический университет, г. Москва, Российская Федерация

А. Альхаир, Е. А. Шукина, М. И. Губанова, И. А. Кирш, А. М. Ермилова, И. С. Тверитникова

## КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Кирш Ирина Анатольевна

E-mail: kirshia@mgupp.ru

## ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

## ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Альхаир, А., Шукина, Е. А., Губанова, М. И., Кирш, И. А., & Ермилова, А. М. (2023). Разработка и исследование активного упаковочного материала на основе крахмала с использованием в качестве антимикробной добавки натуральное эфирное масло. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 16–31. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.474>

ПОСТУПИЛА: 03.07.2023

ПРИНЯТА: 15.12.2023

ОПУБЛИКОВАНА: 30.12.2023

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.



## АННОТАЦИЯ

**Введение:** При возрастающей нагрузке на окружающую среду увеличивается потребность в отказе от использования химических веществ в качестве антимикробных агентов в упаковочной промышленности, что вызывает необходимость поиска инновационных природных решений для замены этих веществ. В рамках данного исследования были разработаны упаковочные материалы на основе крахмала с введением натуральной антимикробной добавки, которые могут стать ответом на эту проблему. Использование новых экологически чистых материалов позволяют продлить срок хранения пищевых продуктов, обеспечивая сохранность и безопасность.

**Цель:** Разработка активной упаковочной пленки из биополимера с введением в неё гвоздичного эфирного масла, определение антимикробных свойств полученного полимерного материала.

**Материалы и методы:** В данной работе пленку на основе крахмала готовили механическим перемешиванием исходных реагентов с введением эфирного масла различной концентрации. Далее определяли антимикробные свойства полимерного упаковочного материала диско-диффузным методом в соответствии с МУК 4.2.1890-04 по отношению к (*Bacillus subtilis*), (*Escherichia coli*), (*Candida albicans*) и (*Aspergillus niger*), также был проведен эксперимент по определению способности пленок с эфирным маслом снижать количество КМАФАнМ на поверхности колбасных изделий при их хранении.

**Результаты:** Было установлено, что образцы упаковочной пленки на основе крахмала с эфирным маслом гвоздики обладают антимикробной активностью по отношению к *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* и снижают количество колоний микроорганизмов на поверхности пищевого продукта.

**Выводы:** Разработанный материал имеет высокий потенциал использования в пищевой промышленности, поскольку позволяет улучшить качество и безопасность продуктов, в частности колбасных изделий, а также снизить количество пластиковых синтетических упаковочных материалов, оказывающих негативное влияние на окружающую среду. Полученный материал с антимикробными свойствами может быть использован для упаковки различных пищевых продуктов.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

активная упаковка, пленка на основе крахмала; эфирное масло гвоздики; антимикробная пленка; антибактериальное покрытие; противогрибковые свойства; диско-диффузный метод, КМАФАнМ

# Development of an Active Starch-Based Packaging Material Using Clove Oil Extract as an Antimicrobial Additive

Russian Biotechnological University, ,  
Moscow, Russian Federation

## CORRESPONDENCE:

Irina A. Kirsh

E-mail: kirshia@mgupp.ru

## DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

## FOR CITATIONS:

Alkhair, A., Shchukina, E.A., Gubanov, M.I., Kirsh, I.A., & Ermilova, A.M. (2023). Development of an active starch-based packaging material using clove oil extract as an antimicrobial additive. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 16–31. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.474>

RECEIVED: 03.07.2023

ACCEPTED: 15.12.2023

PUBLISHED: 30.12.2023

## DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.



Ali Alkhair, Ekaterina A. Shchukina, Marina I. Gubanov, Irina A. Kirsh, Alexandra M. Ermilova, Isabella S. Tveritnikova

## ABSTRACT

**Introduction:** With increasing pressure on the environment, there is an increasing need to eliminate the use of chemicals as antimicrobial agents in the packaging industry, which raises the need to find innovative natural solutions to replace these substances. In this study, starch-based packaging materials with the introduction of a natural antimicrobial additive were developed as a potential answer to this problem. The use of new environmentally friendly materials can extend the shelf life of food products, ensuring preservation and safety.

**Purpose:** Development of active packaging film from biopolymer with introduction of clove essential oil into it, determination of antimicrobial properties of the obtained polymeric material.

**Materials and Methods:** In this work, starch-based film was prepared by mechanical mixing of initial reagents with the introduction of essential oil of different concentrations. Then antimicrobial properties of polymeric packaging material were determined by disk-diffusion method in accordance with MUK 4.2.1890-04 in relation to (*Bacillus subtilis*), (*Escherichia coli*), (*Candida albicans*) and (*Aspergillus niger*), also an experiment was conducted to determine the ability of films with essential oil to reduce the amount of CMAFANM on the surface of sausage products during their storage.

**Results:** It was found that samples of packaging film based on starch with clove essential oil have antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* and reduce the number of microorganisms colonies on the surface of the food product.

**Conclusion:** The developed material has a high potential for use in the food industry, as it allows to improve the quality and safety of products, in particular sausage products, as well as to reduce the amount of plastic synthetic packaging materials that have a negative impact on the environment. The obtained material with antimicrobial properties can be used for packaging of various food products.

## KEYWORDS

active packaging; starch-based film; clove essential oil; antimicrobial film; antibacterial coating; antifungal properties; disk-diffusion method; CMAFANM

## ВВЕДЕНИЕ

Упаковочные материалы имеют большое значение для сохранения качества продуктов и обеспечения их безопасности для потребителей, продления сроков хранения продуктов питания. Упаковка является неотъемлемой частью жизненного цикла каждого продукта, так как помогает контролировать срок годности продуктов и упрощает их транспортировку и хранение, а также защищает продукты от внешних воздействий, таких как солнечный свет, влага, загрязнение, бактерии и другие вредные факторы. Наиболее перспективно использование натуральных природных полимерных материалов, так как использование синтетических упаковочных материалов негативно отражается на экологии.

Статистика показывает, что большая часть пластика не перерабатывается, что приводит к масштабному накоплению отходов. В 2020 году доля пластика составляла половину объёма коммунального мусора в РФ (ТАСС, 29 января 2021). По данным Минпромторга России, очень малая часть полиэтилена (20%) перерабатывается, почти столько же полипропилена (17%), а процент перерабатываемой макулатуры всего 30% (Стратегия развития промышленности по обработке, 2018). В связи со сложившейся ситуацией, создание и развитие упаковочных материалов на основе природных полимеров приведет к сокращению количества пластика, используемого в пищевой и упаковочной промышленности, и тем самым — к защите окружающей среды и человека от негативных последствий пластиковых отходов.

При разработке новых упаковочных материалов исследования были сосредоточены на создании многофункциональных упаковочных материалов, особенно биоразлагаемых с антимикробными и окислительными свойствами, способных продлить срок годности пищевых продуктов (Wen, 2021; Sadekuzzaman, 2015)<sup>1</sup>. При создании упаковочных материалов с антимикробными свойствами предпочтительнее использование натуральных

добавок для достижения двух целей: во-первых, обеспечить безопасность потребителей и снизить риск для здоровья в результате снижения использования синтетических химических веществ, и во-вторых, не оказывать негативного влияния на продолжительность разложения упаковочных материалов<sup>2</sup>. В то время как использование синтетических химических веществ может продлить процесс разложения (Sharma, 2021).

Для предотвращения заражения пищевой продукции, которое может привести к непоправимым последствиям, одним из перспективных способов является введение или нанесение на упаковку специальных антимикробных добавок, обладающих бактерицидными свойствами<sup>2</sup>. Существует ряд антимикробных добавок, допущенных для использования в упаковке пищевой продукции. В экологическом отношении перспективными являются натуральные природные добавки, в частности эфирные масла.

Эфирные масла привлекают внимание исследователей своими антимикробными свойствами, которые делают их безопасной альтернативой промышленным консервантам (Ashrafudoulla, 2020). Содержат активные вещества, такие как терпены, которые могут уничтожать бактерии, грибки и другие микроорганизмы или подавлять их рост. Наиболее популярными эфирными маслами являются масло чайного дерева, лимонника, масло эвкалипта, тимьяна, лаванды и масло гвоздики (Sharma, 2011), которые обладают антибактериальными и противогрибковыми свойствами. Поэтому они могут быть использованы для обработки и упаковки пищевых продуктов, чтобы предотвратить порчу и продлить срок годности. Экстракт гвоздичного масла безопасен, эффективен, широко используется в медицинских целях в качестве антисептика, однако информации о его антимикробных свойствах недостаточно для его использования в качестве антимикробной добавки в упаковочном материале для продления сроков хранения пищевой продукции. Целью данного исследования являлось опре-

<sup>1</sup> Патент RU 2 731 695 C1 Потороко И. Ю., Малинин А. В., Цатуров А. В., Науменко Н. В., Калинина И. В. Способ получения биоразлагаемого композиционного материала на основе растительных биополимеров. — 2020, № 2019139536 file:///C:/Users/H/Downloads/RU2731695C1.pdf

<sup>2</sup> Патент RU 2 669 865 C1 Малинкина О. Н., Папкина В. Ю., Шиповская А. Б. Композиция для получения биоразлагаемого полимерного материала и биоразлагаемый полимерный материал на её основе. — 2016, № 2017136410 file:///C:/Users/H/Downloads/RU2669865C1%20(1).pdf



деление влияния упаковочного материала на основе крахмала, содержащей эфирное масло гвоздики на микроорганизмы и оценка способности к подавлению микроорганизмов для пролонгации сроков хранения продуктов питания.

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Пленки на основе природных полимеров всегда использовались как идеальные матрицы для включения натуральных эфирных масел, и основным недостатком этих пленок всегда было то, что они быстро растворяются в воде и становятся хрупкими. По некоторым данным, добавление к ним натурального эфирного масла усиливает гидрофобность поверхности упаковочного материала, увеличивает его прочность и снижает его паропроницаемость. (Ojagh, 2010; Pires, 2013).

Проведенные исследования подтверждают, что эфирное масло гвоздики обладает антимикробными свойствами в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, дрожжей и грибов. В эксперименте, проведенном Л. Нуньес и М. Д'Акино на газовом хроматографе (ГХ), определили химический состав: эвгенол (83,13 %),  $\beta$ -кариофиллен (6,88 %),  $\alpha$ -гумулен (2,48 %), оксикариофиллен (3,59 %), эвгенилацетат (2,41 %). Антимикробные свойства эфирного масла гвоздики приписывают эвгенолу (Nuñez, 2012; Tajkarimi, 2010).

### Применение эфирного масла гвоздики

Эфирное масло гвоздики является эффективным компонентом, который может быть использован в различных областях жизни, и продолжение исследований в этой области только подтвердит его положительные свойства и возможности применения (Sienkiewicz, 2011).

#### Фармацевтика

Выявлено, что в состав лекарственных препаратов наиболее часто входят эфирные масла, основным компонентом которых являются монотерпены.

Гвоздичное масло содержится в таких лекарствах, как золотая звезда, кармолис, паронтал, эфилепт, эфквамон (Пономарева, 2016).

#### Медицина

Масло гвоздики обладает сильным антисептическим, спазмолитическим, укрепляющим, стимулирующим и ветрогонным действием, поэтому его можно применять в профилактических целях во время эпидемий воздушно-капельных и кишечных инфекций. Масло гвоздики является обезболивающим средством, а также оно укрепляет иммунную систему и оказывает согревающее действие<sup>3</sup> (Batiha, 2020).

#### Ветеринария

Масло гвоздики обычно используется для анестезии или эвтаназии лабораторных или домашних рыб.

### Безопасное использование эфирного масла гвоздики в пищевой упаковке

Широкое применение эвгенола не означает, что он не является токсичным при использовании в высоких концентрациях. Безопасная доза была определена на уровне 2,5 мг эвгенола на кг тела человека (Ulanowska, 2021). По данным Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США, эвгенол считается безопасным (Jeyakumar, 2021). Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США разрешило использование эвгенола в качестве антисептического анальгетика в медицине и в качестве ароматизатора в пищевой промышленности (Nejad, 2017; Basch, 2008; Kamatou, 2012).

### Применение эфирного масла гвоздики в упаковке пищевых продуктов

Одной из трудностей, возникающих при использовании эфирных масел для консервирования пищевых продуктов, является их нестабильность. Их летучие компоненты и подверженность быстро-

<sup>3</sup> Шавловская, О.А. (2016). Спектр применения эфирных масел в современной медицине на примере бальзама Золотая звезда. *Лечащий врач*, 10. <https://www.lvrach.ru/2016/10/15436568>

му окислению значительно снижают эффективность их использования в качестве природного консерванта. Этот факт натолкнул исследователей на мысль об использовании эфирных масел в упаковке (Sharma, 2021). Введение в полимерную матрицу натуральных эфирных масел привело к положительным результатам, выраженным в улучшении структуры получаемых пленок (Atar'es, 2016).

Эфирное масло гвоздики используется в производстве биологически активных упаковочных материалов, способных подавлять активность организмов, вызывающих порчу пищевых продуктов. Причина широкого использования биологически активных упаковочных материалов, в противовес химически активным, в которых обычно используются такие химические вещества, как поглотители ауксинов и газообразный этилен, связана с опасностью, которую эти химические вещества могут причинить здоровью человека (Sharma, 2021; Matan, 2006).

Наиболее распространенный способ приготовления пленок с эфирным маслом гвоздики заключается в использовании растворителя, такого как хлороформ. Этот процесс включает смешивание масла с растворителем и последующее перемешивание при низкой температуре в течение определенно-

го периода времени. Затем полученный раствор выливается на стеклянную пластину для создания пленки. Эфирное масло гвоздики имеет широкий спектр применения в создании упаковочных материалов. В таблице 1 приведены примеры его использования.

### Механизм действия эвгенола

Эвгенол продемонстрировал антимикробные свойства против многих патогенов человека, включая широкую группу грамотрицательных и грамположительных бактерий, а также грибов (Sienkiewicz, 2011; Fangjun, 2018; Gökalp, 2011).

Механизм действия эвгенола заключается в том, что он связывается с белками на поверхности микроорганизмов, таких как бактерии и грибы, и нарушает их функции. Эвгенол может разрушать клеточные стенки микроорганизмов, что приводит к их гибели (Raja, 2015).

Эвгенол — это вещество, которое обладает антибактериальными свойствами и может бороться с различными видами бактерий, даже такими как *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

**Таблица 1**

Примеры использования эфирного масла гвоздики в создании упаковочных материалов

Полимер	Технология получения, концентрации эфирного масла и антимикробных свойств
(ПМК) и (PCL)	Эфирное масло было иммобилизовано в мезопористых наночастицах кремнезема в концентрациях 1 %, 2 % и 3 %. Пленки были получены путем растворения полимолочной кислоты (ПМК) и поликапролактона (PCL) в хлороформе и далее наливании раствора на стеклянную пластину. В результате пленки с эфирным маслом гвоздики показали антимикробные свойства в отношении ( <i>E. coli</i> ) и ( <i>S. aureus</i> ) (Wangwei, 2021).
(ПМК) и (PBAT)	Пленки на основе полимолочной кислоты и PBAT (бутиленадипат-котерефталат) были получены с тремя концентрациями эфирного масла гвоздики (1, 5 и 10) % с использованием хлороформа, этанола и глицерина. Компоненты перемешивались в течение 24 часов при температуре $23 \pm 2$ °C, далее раствор выливался на стеклянную пластину с тефлоновым покрытием. Пленки с эфирным маслом гвоздики показали антимикробные свойства в отношении ( <i>E. coli</i> ) и ( <i>S. aureus</i> ) (Shubham, 2020).
(ПГА) и (ПЭГ)	Материалы получали путём растворения в растворе хлороформа полигидроксibuтирата (ПГА) в течение шести часов при температуре 60 °C. После этого раствор выдерживали при комнатной температуре в течение 12 часов, затем перемешивали в течение 4 часов, далее подвергали фильтрации и добавляли полиэтиленгликоль (ПЭГ), далее перемешивали в течение часа. Отдельно были приготовлены растворы при концентрации эфирного масла гвоздики (5, 10 и 15) % путем растворения масла в соответствующих количествах в растворе хлороформа, эти растворы были добавлены к предварительно приготовленному раствору (ПГА) и (ПЭГ). В конце раствор выливали в чашку Петри и оставляли до полного испарения растворителя. Пленки с эфирным маслом гвоздики показали антимикробные свойства в отношении ( <i>E. coli</i> ), ( <i>E. aerogenes</i> ) и ( <i>S. aureus</i> ) (Silva, 2020).

и *Escherichia coli*. Его эффективность объясняется присутствием свободной группы ОН в его структуре. Говоря о грамотрицательных бактериях, эвгенол наносит повреждения цитоплазматической мембране. Благодаря своей гидрофобности эвгенол может легко проникать в мембрану липополисахаридных клеток и в их цитоплазму. Когда он находится внутри клетки, эвгенол вызывает изменения в ее структуре, что приводит к выходу внутриклеточных компонентов (Walsh, 2015)

Гидроксильная группа в эвгеноле может препятствовать действию протеазы, гистидинкарбоксилазы и амилазы у энтеробактерных аэрогенов, связываясь с ними. Исследования также показали потенциальную способность эвгенола ингибировать активность мембранной АТФ-фазы у моноцитогенов *Escherichia coli* и *Listeria 19*. Кроме того, считается, что эвгенол способен вызывать образование активных форм кислорода внутри клетки, что может привести к гибели клеток. Это достигается путем ингибирования роста клеток, повреждения клеточной мембраны и ДНК. Эти открытия представляют значимость эвгенола в борьбе с бактериальными инфекциями и открывают новые перспективы для разработки антимикробных препаратов на основе данного соединения. (Ulanowska, 2021).

Эвгенол также продемонстрировал противогрибковую активность против ряда грибковых штаммов. В случае грибов считается, что эвгенол нарушает функцию клеточной мембраны, ингибирует факторы вирулентности и предотвращает образование грибковой биопленки (El-Baky, 2016).

Таким образом, на основании проведенного нами анализа литературных данных, можно сделать вывод, что использование эфирного масла гвоздики в качестве антимикробной добавки перспективно и актуально для создания активной упаковки на основе природных полимеров, в том числе крахмала.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объекты исследования

Пленка на основе крахмала — контрольный образец. Пленка на основе крахмала, модифицированная гвоздичным маслом с различной концентраци-

ей (0,5; 1; 3; 5) %. Важным аспектом использования низкой концентрации эфирных масел является безопасность, так как уменьшается риск возникновения нежелательных побочных эффектов у потребителей. Это особенно важно для людей с аллергическими реакциями или гиперчувствительностью, которые могут негативно отреагировать на более высокие концентрации эфирных масел. Кроме того, гвоздичное масло может оказывать влияние на различные свойства, такие как оптические или растяжимые, что в свою очередь может повлиять на приемлемость продукта для потребителя. Однако использование меньшего количества гвоздичного масла также имеет другие преимущества — позволяет избежать ненужных затрат. Эфирные масла являются ценными и дорогостоящими ингредиентами, поэтому использование их в меньших концентрациях помогает снизить затраты на производство. Таким образом, использование низких концентраций эфирного масла в данной работе обеспечивает безопасность и экономическую эффективность.

Исследуемые материалы использовали в виде дисков диаметром 2 см и толщиной 1 мм, а также в виде покрытий на колбасных изделиях.

### Материалы

Картофельный крахмал: Изготовитель: ООО «СКАЙФУД» Россия, 141865, Московская область, Дмитровский р-н, РП Некрасовский Ул. Ушакова, Д. 27 ГОСТР 53876-2010;

Глицерин: Производитель: Самарамедпром ОАО, Россия, 249717, Калужская обл., Козельский р-н, Фроловское, 703-67-30;

Уксус: Уксус столовый 9%, КомисКом ООО «Калязинский ЭПК», Россия, Тверская область., г. Калязин, ТУ 9182-003-00334586-02;

Гвоздичное масло (*eugenia caryophyllat*). Изготовитель: ООО «Бизнесойл» г. Москва, поселение Щаповское, пос. Курилово, Бренд: Aroma Bio; ТР ТС 009/2011, ТУ 9151-010-57042024-2015;

Питательная среда «Сабура». Состав среды (1000 мл): агар — 20 гр, пептон — 10 г, глюкоза — 40 г. Производство «diaGene, Россия», ГОСТ 9.048-89;

Штаммы микроорганизмов: *Escherichia coli* — кишечная палочка — вид грамотрицательных палочковидных бактерий; *Bacillus subtilis* — известная также как сенная палочка или травяная палочка — вид грамположительных бактерий; *Candida albicans* — дрожжеподобный грибок, и *Aspergillus niger* — плесневый грибок (из коллекции центра коллективного пользования «Перспективные упаковочные решения и технологии рециклинга», кафедры «Промышленный дизайн, технология упаковки и экспертиза» Российского биотехнологического университета (РОСБИОТЕХ)).

### Оборудование

Стерилизатор паровой DGM-200.

Термостат суховоздушный ТС-1/80 СПУ.

Стандартные стеклянные чашки Петри.

## МЕТОДЫ

### Метод получения упаковочного материала

В данной работе пленки готовили механическим перемешиванием исходных реагентов в дистиллированной воде. Далее полученный раствор разливали в стеклянные пластины и сушили при комнатной температуре в течение 3 дней.

### Оценка антимикробной активности, а также фунгицидное воздействие гвоздичного масла

Антимикробную и фунгицидную активность гвоздичного масла для *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* оценивали с использованием метода дисков в соответствии с МУК 4.2.1890–04<sup>4</sup>.

Был проведен эксперимент по определению способности пленок с эфирным маслом снижать количество микроорганизмов, растущих на поверхности колбасных изделий после упаковывания в пленки и хранении при комнатной температуре ( $23 \pm 2$ ) °C в течение 7 суток методом КМАФАнМ.

### Процедура исследования

#### *Приготовление исследуемого материала*

Для приготовления образцов исследуемого материала в дистиллированную воду вводили крахмал, уксус, глицерин и гвоздичное масло с концентрацией (0,5; 1; 3; 5) %. Затем проводили механическое перемешивание исходных реагентов и нагревали полученный раствор на водяной бане при температуре  $98 \pm 2$  °C на 5 минут. Полученный раствор разливали в стеклянные пластины и сушили при комнатной температуре в течение 3 суток.

В результате были получены пленки упаковочных материалов на основе крахмала с добавлением гвоздичного масла. Исследуемые образцы формировались в виде дисков диаметром 2 см, толщиной 1 мм для определения антимикробной активности. Для проведения эксперимента по определению способности пленок с эфирным маслом снижать количество микроорганизмов КМАФАнМ, растущих на поверхности колбасных изделий после упаковывания в пленки и хранении при комнатной температуре ( $23 \pm 2$ ) °C в течение 7 суток, проводили нанесение исследуемых композиций путем окунания в них колбасных изделий с последующим высушиванием.

#### *Оценка антимикробной активности, а также фунгицидного воздействия гвоздичного масла*

В ходе исследования антимикробной активности пленочных материалов были выбраны наиболее значимые санитарно — показательные микроорганизмы в пищевой промышленности. Среди них были *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*.

Для этой цели в подготовленную в чашках Петри стерилизованную питательную среду «Сабура» ввели суспензию 0,1 мл на основе физраствора каждого микроорганизма: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*. Затем поместили подготовленный упаковочный материал в виде кругов диаметром 2 см. Внесли 0,1 мл суспензии в каждую чашку Петри. С помощью шпателя Дригальского распределили суспензию микроорганизмов по всей поверхности чашки. После чего

<sup>4</sup> МУК 4.2.1890–04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. — М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. — 91 с. <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293754/4293754463.pdf>



инкубировали образцы в термостате при температуре  $(29 \pm 1)^\circ\text{C}$  для *Candida albicans*, *Aspergillus niger* и  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  для *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*. Визуальную оценку поверхности образцов проводили через 2–8 суток.

Для определения способности исследуемых композиционных материалов снижать количество микроорганизмов, растущих на поверхности колбасных изделий, на поверхность продукта нанесли растворы композиций с различной концентрацией антимикробной добавки методом окунания. Исследуемые образцы закрепили в штативе и высушивали в течение 5 суток. Затем провели смыв с поверхности колбасного изделия ( $3\text{ см}^2$ ) физраствором (50 мл). Полученную суспензию микроорганизмов в количестве 0,1 мл поместили в питательную среду «Сабуро» в чашки Петри, после чего провели инкубацию при  $30^\circ\text{C}$  в течение 7 суток.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе исследуемой работы мы получили пленки на основе крахмала с добавлением эфирного масла гвоздики (Рисунок 1).

Визуальная оценка представленных на Рисунке 1 материалов показала, что материалы имеют однородную структуру, что указывает на хорошую совместимость между всеми компонентами рецептур. С увеличением концентрации пленка становится более шершавой и желтоватой.

На следующем этапе определяли антимикробные свойства полученных материалов диско — диффузным методом в соответствии с МУК 4.2.1890–04.

Закрытые чашки Петри с образцами инкубировали в термостате. Визуальную оценку поверхности образцов проводили через 48–120 ч для всех культур. Полученные результаты для исследуемых образцов представлены на Рисунках 2–10.

Из представленных фото на рисунке 2 видно, что зона ингибирования культуры наблюдается у образцов с концентрацией гвоздичного масла 3 % и 5 % соответственно.

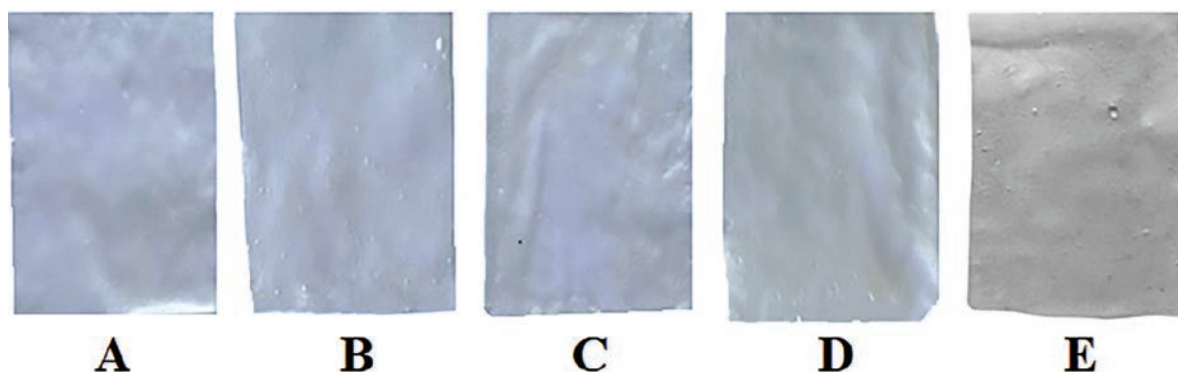
На следующем этапе проводили оценку антимикробных свойств через 5 суток у образцов с концентрацией 3 % и 5 % гвоздичного масла, так как у них проявилась наибольшая зона ингибирования по сравнению с контрольным образцом и образцами с концентрацией гвоздичного масла 0,5 % и 1 %.

На данном этапе образцы показали антибактериальные свойства с более высокой концентрацией 3 %, 5 %. Как видно из Рисунка 4 зона ингибирования составляет у данных образцов 11 мм.

Наилучшие результаты также у образцов с концентрацией антимикробной добавки 3 % и 5 %. Зона ингибирования уменьшилась через 5 суток у образца D на 2 мм, у образца E на 1 мм по сравнению с теми же образцами через 2 суток.

**Рисунок 1**

Внешний вид экспериментальных образцов, полученных материалов на основе крахмала

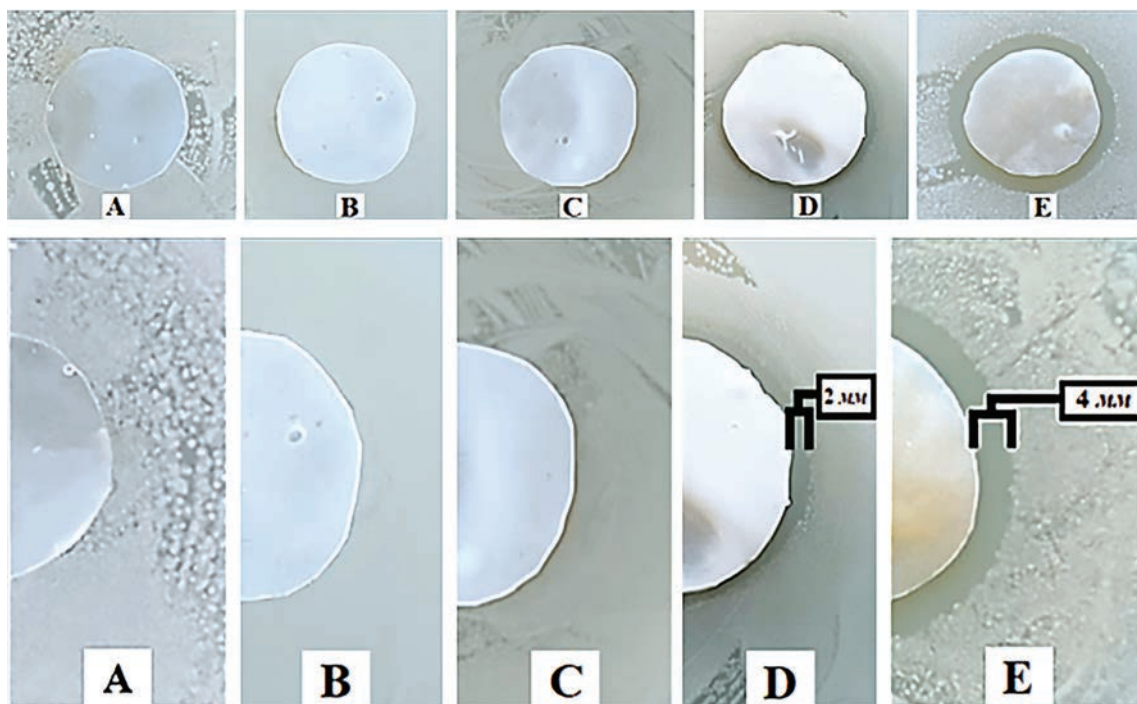


Примечание: А — контрольный образец без антимикробной добавки; В — образец с концентрацией гвоздичного масла 0,5 %; С — образец с концентрацией гвоздичного масла 1 %; D — образец с концентрацией гвоздичного масла 3 %; E — образец с концентрацией гвоздичного масла 5 %



**Рисунок 2**

Внешний вид пленок инокулированных с *Candida albicans* через 2 суток



Примечание: А — контрольный образец без антимикробной добавки; В — образец с концентрацией гвоздичного масла 0,5 %; С — образец с концентрацией гвоздичного масла 1 %; D — образец с концентрацией гвоздичного масла 3 %; Е — образец с концентрацией гвоздичного масла 5 %

**Рисунок 3**

Внешний вид пленок инокулированных с *Candida albicans* через 5 суток



Примечание: D — образец с концентрацией гвоздичного масла 3 %; Е — образец с концентрацией гвоздичного масла 5 %

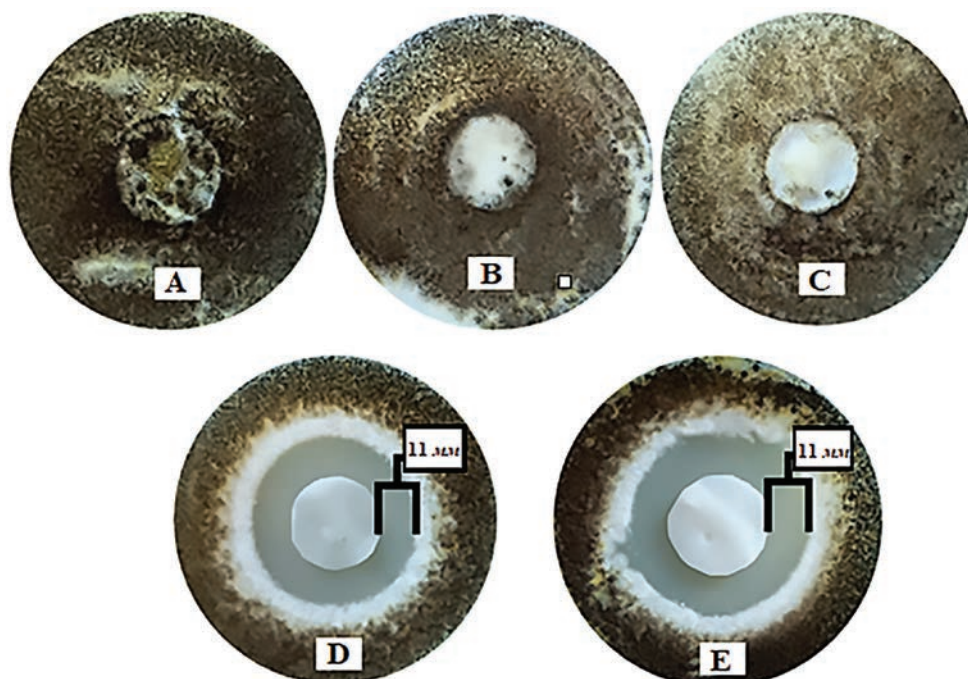
Из Рисунка 6 видно, что через 8 суток происходит подавление роста культуры *A.niger*. Таким образом, материалы с концентрацией гвоздичного масла 3 % и с концентрацией гвоздичного масла 5 % подавляют развитие культуры *Aspergillus niger* на протяжении всего периода наблюдения.

На фото, представленных на Рисунке 8 зона наблюдается зависимость увеличения зоны ингибирования культуры *Bacillus subtilis* от 0,3 мм до 2 мм с повышением концентрации антимикробной добавки от 0,5 % до 5 % соответственно, что свидетельствует о чувствительности данной культуры к воздействию гвоздичного масла.

На фото, представленном на Рисунке 9 незначительная зона ингибирования наблюдается только у образца с концентрацией гвоздичного масла 5 %.

**Рисунок 4**

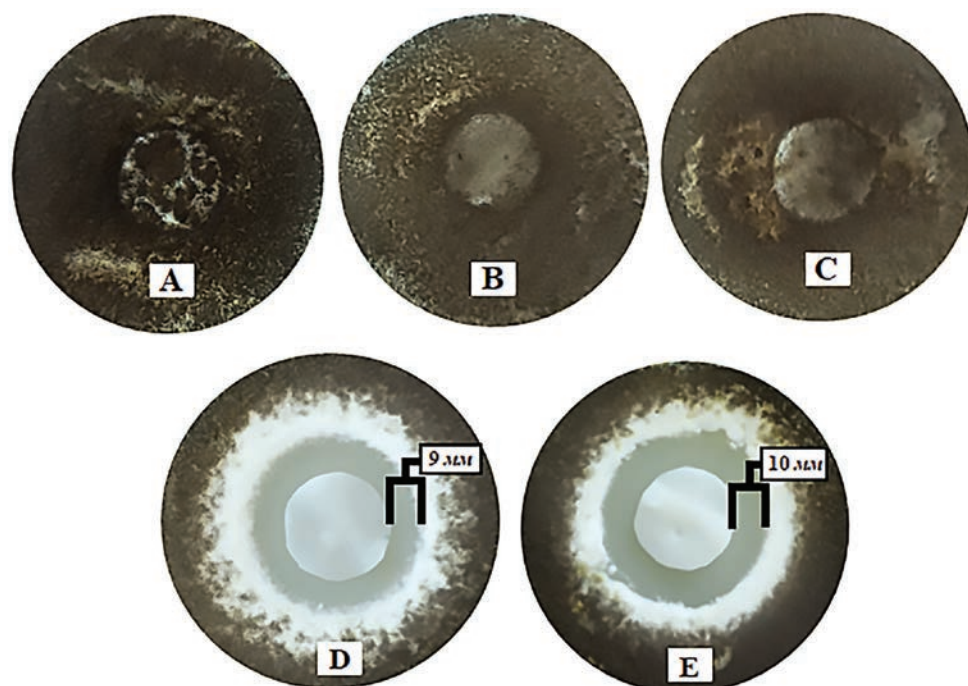
Внешний вид пленок инокулированных с *A.niger* через 2 суток



Примечание: А – контрольный образец без антимикробной добавки; В- образец с концентрацией гвоздичного масла 0,5 %; С – образец с концентрацией гвоздичного масла 1 %; D – образец с концентрацией гвоздичного масла 3 %; E – образец с концентрацией гвоздичного масла 5 %

**Рисунок 5**

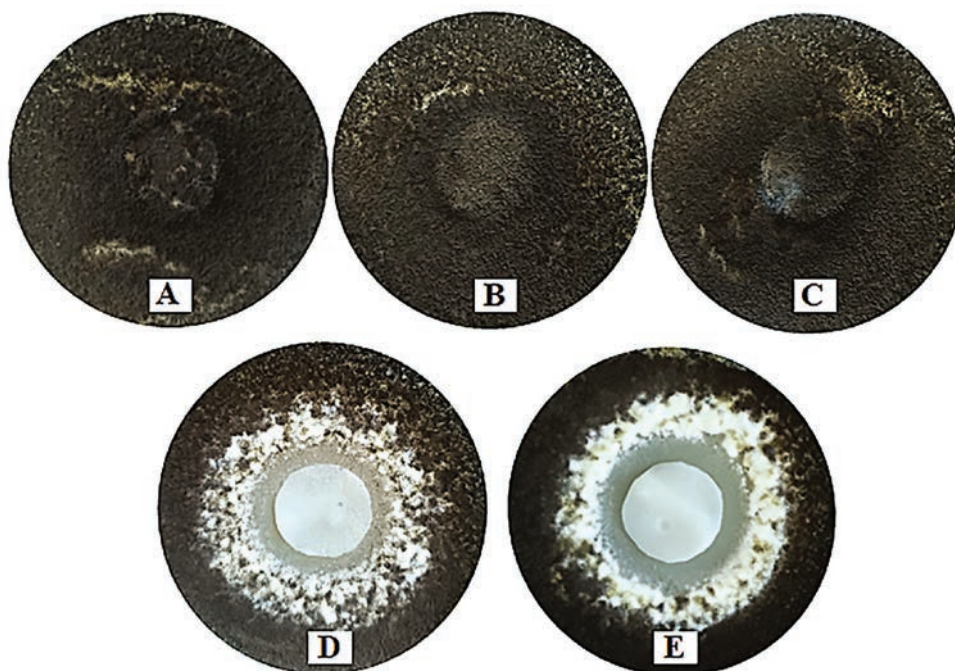
Внешний вид пленок инокулированных с *A.niger* через 5 суток



Примечание: А – контрольный образец без антимикробной добавки; В – образец с концентрацией гвоздичного масла 0,5 %; С – образец с концентрацией гвоздичного масла 1 %; D – образец с концентрацией гвоздичного масла 3 %; E – образец с концентрацией гвоздичного масла 5 %

**Рисунок 6**

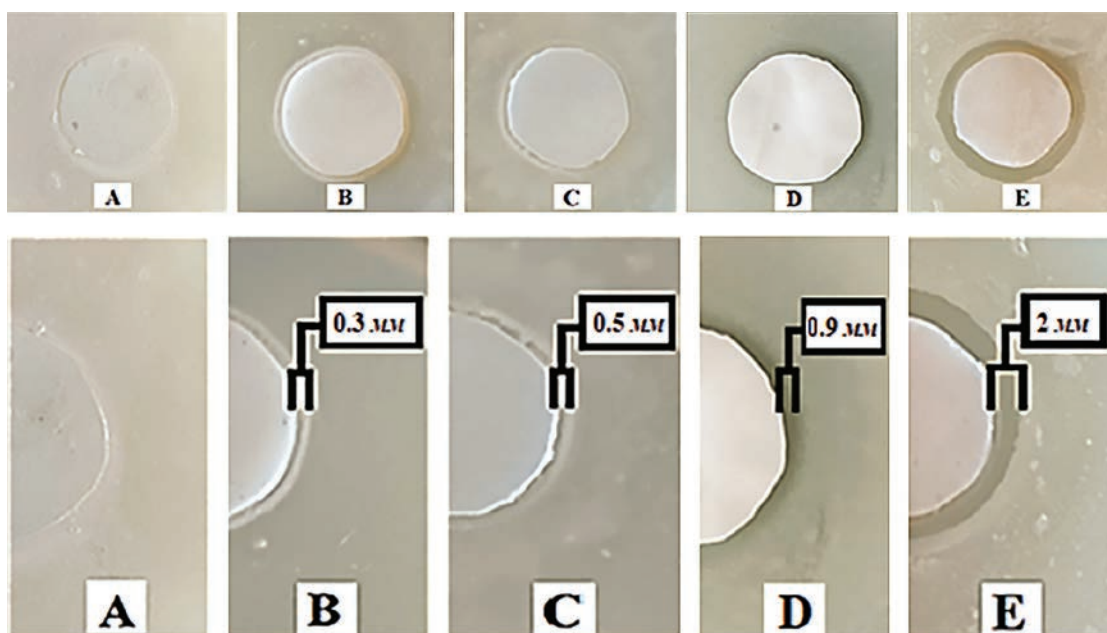
Внешний вид пленок инокулированных с *A.niger* через 8 суток



Примечание: А – контрольный образец без антимикробной добавки; В – образец с концентрацией гвоздичного масла 0,5 %; С – образец с концентрацией гвоздичного масла 1 %; D – образец с Е – образец с концентрацией гвоздичного масла 5 %

**Рисунок 7**

Внешний вид пленок инокулированных с *Bacillus subtilis* через 2 суток

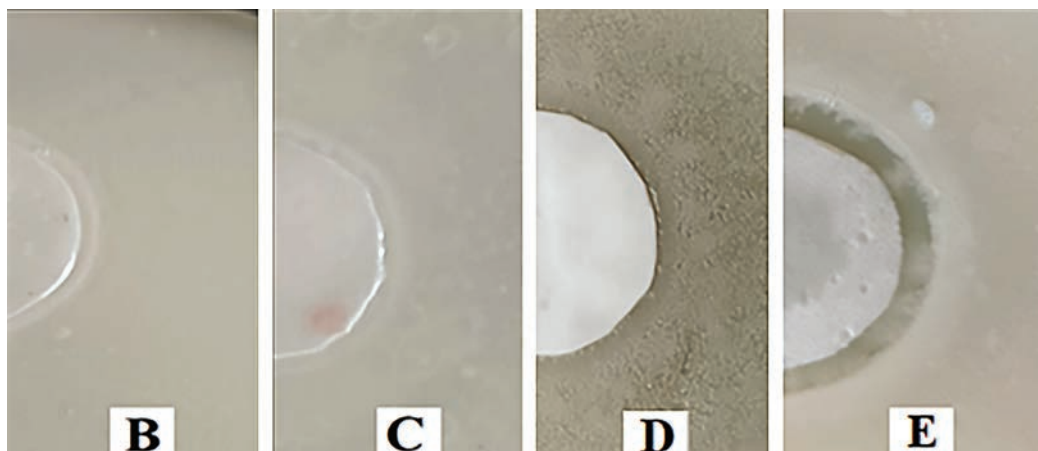


Примечание: А – контрольный образец без антимикробной добавки; В – образец с концентрацией гвоздичного масла 0,5 %; С – образец с концентрацией гвоздичного масла 1 %; D – образец с Е – образец с концентрацией гвоздичного масла 5 %



**Рисунок 8**

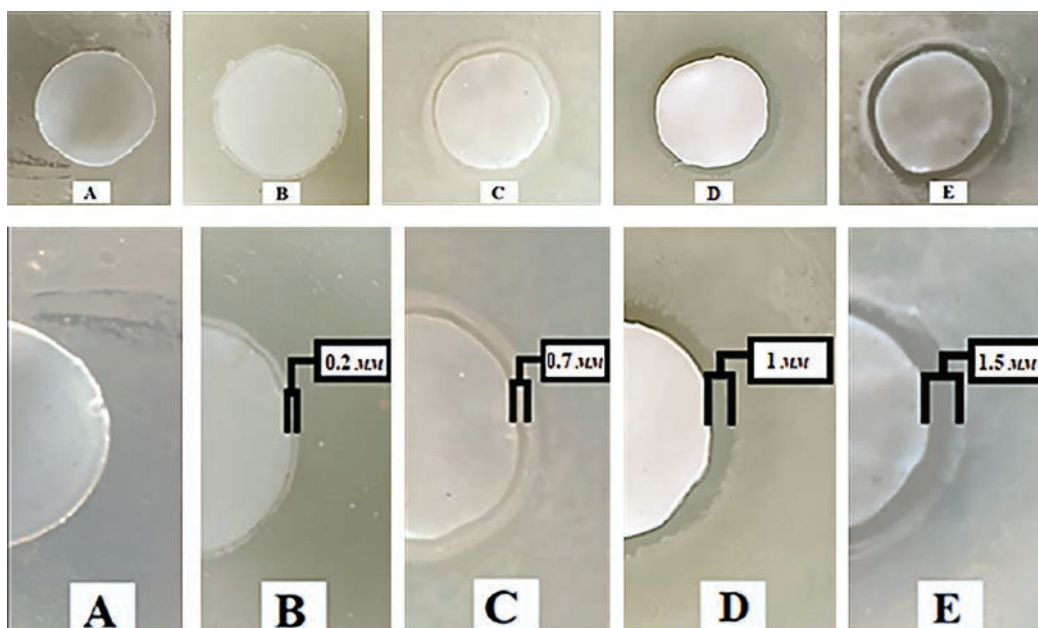
Внешний вид пленок инокулированных с *Bacillus subtilis* через 5 суток



Примечание: В — образец с концентрацией гвоздичного масла 0,5 %; С — образец с концентрацией гвоздичного масла 1 %; D — образец с — образец с концентрацией гвоздичного масла 5 %

**Рисунок 9**

Внешний вид пленок инокулированных с *Escherichia coli* через 2 суток



Примечание: А — контрольный образец без антимикробной добавки; В — образец с концентрацией гвоздичного масла 0,5 %; С — образец с концентрацией гвоздичного масла 1 %; D — образец с — образец с концентрацией гвоздичного масла 5 %

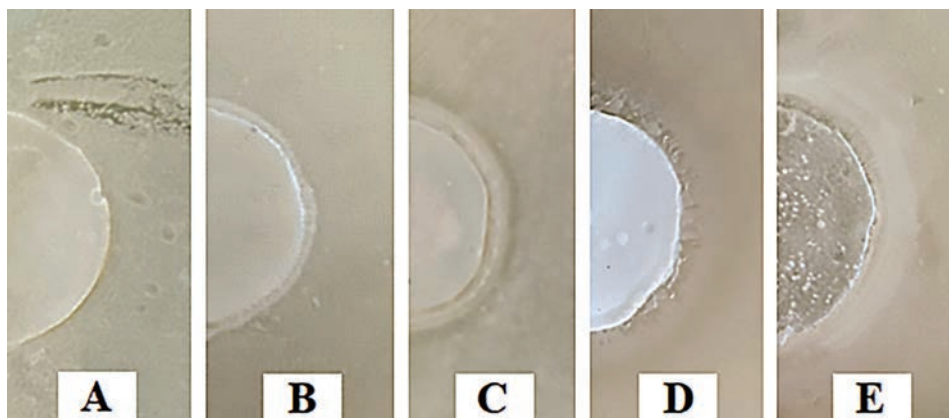
На фото, представленных на Рисунке 9 зона ингибирования культуры *Escherichia coli* увеличивается от 0,2 мм до 1,5 мм с повышением концентрации антимикробной добавки в образцах от 0,5 % до 5 % соответственно, что свидетельствует о чувствительности данной культуры к воздействию гвоздичного масла через 2 суток.

Из представленного на Рисунке 11 фото видно, что культура *Escherichia coli* развивалась на исследуемом материале, подавления культуры через 5 суток нет.

Далее провели эксперимент по определению способности пленок с эфирным маслом снижать ко-

**Рисунок 10**

Внешний вид пленок инокулированных с *Escherichia coli* через 5 суток

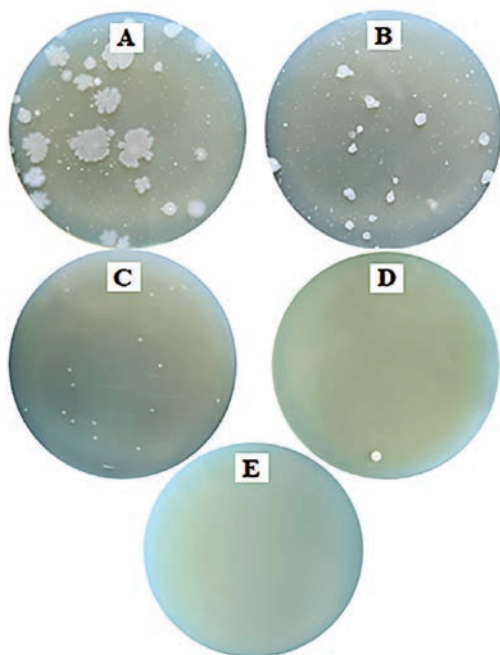


Примечание: А – контрольный образец без антимикробной добавки; В – образец с концентрацией гвоздичного масла 0,5 %; С – образец с концентрацией гвоздичного масла 1 %; D – образец с концентрацией гвоздичного масла 3 %; Е – образец с концентрацией гвоздичного масла 5 %

личество микроорганизмов (КМАФАнМ) растущих на поверхности колбасных изделий с течением времени, результаты представлены на Рисунке 11.

**Рисунок 11**

Внешний вид колоний микроорганизмов (КМАФАнМ) в Чашках Петри после 7 суток инкубации смывов



Примечание: А – колбасное изделие без упаковки; В – колбасное изделие с упаковкой без эфирного масла; С – колбасное изделие в упаковке с эфирным маслом с концентрацией 0,5 %; D – колбасное изделие в упаковке с эфирным маслом с концентрацией 1 %; Е – колбасное изделие в упаковке с эфирным маслом с концентрацией 3 %

Из представленного на Рисунке 11 фото видно, что наибольшее количество КМАФАнМ наблюдается при хранении колбасного изделия без упаковки, при хранении продукта в упаковке без эфирного масла количество КМАФАнМ снизилось, при введении в материал эфирного масла 0.5 % и 1 % количество КМАФАнМ резко снизилось, при хранении колбасного изделия в упаковке с концентрацией эфирного масла 3 % КМАФАнМ подавляются в срок до 7 суток.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### Плётка на основе крахмала с добавлением эфирного гвоздичного масла

При визуальной оценке полученных пленок установлено, что пленки являются однородными, гладкими, средняя толщина составляет 1 мм. С увеличением концентрации эфирного масла материал становился более шершавым и пористым с желтоватым оттенком по сравнению с контрольным образцом. Материал с добавкой эфирного масла гвоздики имеет слабый запах.

### Антигрибковая активность

В ходе исследования были изучены штаммы патогенных грибов *Aspergillus niger* и *Candida albicans*, их развитие на средах, содержащие материалы



с эфирным маслом. Исследование антигрибковой активности показало, что повышение эффективности гвоздичного масла наблюдалось при увеличении его концентрации в упаковочном материале.

В отношении *Candida albicans*: Введение масла в материал с концентрациями 0,5 % и 1 % не дало значимых результатов, культура продолжала развиваться. Однако с увеличением концентрации до 3 % и 5 % антимикробной добавки привело к ингибированию роста культуры *Candida albicans*, зона ингибирования составила 2 мм и 4 мм соответственно уже через 2 суток. На 5-е сутки подавление культуры не обнаруживается.

В отношении *Aspergillus niger* материал, содержащий гвоздичное масло, проявил наиболее высокую фунгицидную активность. При концентрации эфирного масла 3 % и 5 % зона ингибирования составила 11 мм через 2 суток, 9 мм и 10 мм через 5 суток и через 8 суток культура подавлялась антимикробной добавкой.

Материалы, содержащие гвоздичное масло в отношении *Aspergillus niger*, показали лучшие антигрибковые свойства, чем в отношении *Candida albicans*.

## Антимикробная активность

Антимикробная активность эфирного масла слабее, чем антигрибковая активность по отношению к *Aspergillus niger*. Однако, гвоздичное масло при введении в материал проявило ингибирующее действие на грамположительные и грамотрицательные бактерии. Различные виды бактерий показали почти одинаковые результаты. Грамотрицательные микроорганизмы *Escherichia coli* показали, что с увеличением концентрации эфирного масла зона ингибирования возрастает: 0,5 % — 0,2 мм, 1 % — 0,7 мм; 3 %-1 мм; 5 % — 1,5 мм через 2 суток. На пятые сутки зона ингибирования составила 0 мм.

Грамположительные организмы *Bacillus subtilis* с увеличением концентрации эфирного масла в материале подавляются. При концентрации эфирного масла 0,5 %-0,3мм, 1 %-0,5мм; 3 %-0,9мм; 5 %-2мм через 2 дня. На пятые сутки по отношению к культуре *Bacillus subtilis* очевиден неболь-

шой эффект ингибирования у материала с концентрацией эфирного масла 5 %. Ранее проведенные эксперименты, направленные на изучение антимикробных характеристик гвоздичного масла в качестве компонента пищевой пленки, также продемонстрировали положительные результаты. Проводились аналогичные исследования материалов на основе полимолочной кислоты, полилактолактона, бутиленадипат-котерефталата, полигидроксibuтирата и полиэтиленгликоля с использованием в качестве антимикробной добавки эфирного масла гвоздики в концентрации 1, 5, 10 и 15 % на антимикробную активность по отношению к *E. Coli*, *S. Aureus* (Ванвэй, 2021; Шубхам, 2020; Сильва, 2020). Было установлено, что пленки с эфирным маслом гвоздики проявляют антимикробные свойства в отношении указанных культур. В данной работе были проведены антимикробные исследования по отношению к другим видам микроорганизмов, в том числе на антигрибковую активность.

Таким образом, проведенные нами исследования позволяют расширить спектр использования масляного экстракта гвоздики в качестве антимикробной добавки в упаковочном материале по отношению к *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*. Установлена более высокая эффективность использования масляного экстракта гвоздики в качестве антимикробной добавки в упаковочном материале на основе крахмала против грамположительных бактерий, меньшая эффективность использования наблюдается против грамотрицательных микроорганизмов (Рисунок 9, 11).

Определение способности материала с эфирным маслом подавлять количество микроорганизмов (КМАФАнМ), растущих на поверхности колбасных изделий

В результате проведенного эксперимента было установлено, что с увеличением концентрации эфирного масла в упаковке количество колоний уменьшается. При концентрации 1 %, образовалась только одна колония микроорганизмов. При концентрации антимикробной добавки в исследуемом материале 3 % колоний не было обнаружено вовсе, что подтверждает наличие антимикробных свойств полученного материала.

## ВЫВОДЫ

Исследование доказало, что полученные пленочные материалы на основе крахмала с добавлением гвоздичного масла с различной концентрацией (0,5; 1; 3; 5) % обладают значительной антимикробной активностью против выбранных микроорганизмов. Проведенные эксперименты доказали высокую способность материала, содержащего эфирное масло гвоздики к подавлению грамположительных (*B. subtilis*) и грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli*), а также лучшую противогрибковую активность по отношению к плесневым грибам *Aspergillus niger*. При этом он показал более низкую способность к ингибированию *C. albicans*. Наиболее значимую антимикробную активность проявляют образцы на основе крахмала с концентрацией эфирного масла 3 % и 5 %.

В результате нашего исследования было доказано, что эфирное масло гвоздики в упаковочных образцах на основе крахмала может быть эффективно использовано в качестве добавки для создания ак-

тивных упаковочных материалов, способных продлить срок годности пищевых продуктов.

## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Али Альхаир:** проведение исследования, курирование данных, верификация данных.

**Екатерина Александровна Щукина:** проведение исследования, создание черновика рукописи.

**Марина Ивановна Губанова:** концептуализация, руководство исследованием.

**Ирина Анатольевна Кирш:** разработка методологии исследования.

**Александра Максимовна Ермилова:** проведение исследования.

**Изабелла Сергеевна Тверитникова:** написание-рецензирование и редактирование рукописи.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Пономарева, Е. И., Молохова, Е. И., & Холов, А. К. (2015). Применение эфирных масел в фармации. *Современные проблемы науки и образования*, 4, 567.
- Ponomareva, E. I., Molokhova, E. I., & Kholov, A. K. (2015). The use of essential oils in pharmacy. *Modern Problems of Science and Education*, 4, 567. (In Russ.)
- Ashrafudoulla, Md., Mizan, Md. F. R., Park, Si H., & Ha, S.D. (2020). Current and future perspectives for controlling *Vibrio* biofilms in the seafood industry: a comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(2), 456–794. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1767031>
- Atar'és, L., & Chiralt, A. (2016). Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 48, 51–62.
- Basch, E., Gasparyan, A., Giese, N., Hashmi, S., Miranda, M., Sollars, D., Seamon, E., Tanguay-Colucci, S., Ulbricht, C., Varghese, M., Vora, M., & Weissner, W. (2008). Clove (*Eugenia aromatica*) and clove oil (eugenol). *Journal Diet Suppl*, 5, 117–146. <https://doi.org/10.1080/19390210802335391>
- Batiha, G. E., Alkazmi, L. M., Wasef, L. G., Beshbishy, A. M., Nadwa, E. H., & Rashwan, E. K. (2020). *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. *Biomolecules*, 10, 202. <https://doi.org/10.3390/biom10020202>
- El-Baky, R. M. A., & Shawky, Z. (2016). Eugenol and linalool: Comparison of their antibacterial and antifungal activities. *African Journal of Microbiology Research*, 10(44), 1860–1872. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8283>
- Fangjun, L., & Zhijia, Y. (2018). Tumor suppressive roles of eugenol in human lung cancer cells. *Thorac. Cancer*, 9, 25–29. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.12508>
- Gökalp, F. (2016). A study on the chemical properties of eugenol and eugenol acetate, clove essential oils. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 34 (3), 407–414.
- Jeyakumar, G. E., & Lawrence, R. (2021). Mechanisms of bactericidal action of Eugenol against *Escherichia coli*. *Journal of Herbal Medicine*, 26, 100406. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2020.100406>
- Kamatou, G. P., Vermaak, I., & Viljoen, A. M. (2012). Eugenol — from the remote Maluku Islands to the international market place: A review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*, 17(6), 6953–6981. <https://doi.org/10.3390/molecules17066953>
- Matan, N., Rimkeeree, H., Mawson, A. J., Chompreeda, P., Haruthaithanasan, V., & Parker, M. (2006). Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. *Journal Food Microbiol*, 107, 180–185. <https://doi.org/10.3390/ijms22073671>
- Nejad, S. M., Özgüneş, H., & Başaran, N. (2017). Pharmacological and toxicological properties of Eugenol. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(2), 201–206. <https://doi.org/10.4274/tjps.62207>

- Núñez, L., & Aquino, M. D'. (2012). Microbicide activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 43 (4), 1255–1260. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400003>
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122(1), 161–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.033>
- Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Nunes, M. L., & Marques, A. (2013). Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.05.019>
- Raja, M. R. C., Srinivasan, V., Selvaraj, S., & Mahapatra S. K. (2015). Versatile and synergistic potential of Eugenol: A review. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 6 (5), 1000367. <https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000367>
- Sadekuzzaman, M., Yang, S., Mizan, M. F. R., & Ha SD. (2015). Current and recent advanced strategies for combating biofilms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14 (4), 491–509. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12144>
- Sharma, S., Barkauskaite, S., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2021). Essential oils as additives in active food packaging. *Food Chemistry*, 343, 128403. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128403>
- Shubham, S., Sandra, B., Brendan, D., Amit K. J., & Swarna, J. (2020). Characterization and antimicrobial activity of biodegradable active packaging enriched with clove and thyme essential oil for food packaging application. *Foods*, 9, 1–16. <https://doi.org/10.3390/foods9081117>
- Sienkiewicz, M., Denys, P., & Kowalczyk, E. (2011). Antibacterial and immunostimulatory effect of essential oils. *International Review of Allergology and Clinical Immunology*, 17(1), 40–44.
- Silva, I. D. L., Andrade, M. F., Caetano, V. F., Hallwass, F., Brito, A. M. S. S., & Vinhas, G. M. (2020). Development of active PHB/PEG antimicrobial films incorporating clove essential oil. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 30(2), e2020021. <https://doi.org/10.1590/0104-1428.09319>
- Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21, 1199–1212. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.02.003>
- Ulanowska, M., & Olas, B. (2021). Biological properties and prospects for the application of Eugenol — A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3671. <https://doi.org/10.3390/ijms22073671>
- Walsh, S. E., Maillard, J.-Y., Russell, A. D., Catrenich, C. E., Charbonneau, D. L., & Bartola, R. G. (2003). Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 240–247. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01825.x>
- Wangwei, L., Rui, C., Bifen, Z., Yuyue, Q., Guiguang, C., Lin, L., & Minglong, Y. (2021). Influence of clove essential oil immobilized in mesoporous silica nanoparticles on the functional properties of poly (lactic acid) biocomposite food packaging film. *Journal of Materials Research and Technology*, 11, 1152–1161. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.01.098>
- Wen, L., Liang, Yu., Lin, Z., Xie, D., Zheng, Z., Xu, C., & Lin, B. (2021). Design of multifunctional food packaging films based on carboxymethyl chitosan/polyvinyl alcohol crosslinked network by using citric acid as crosslinker. *Polymer*, 230, 124048. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2021.124048>

# Получение соков на основе арбуза с высоким содержанием питательных веществ

<sup>1</sup> Национальная академия наук Республики Казахстан, г. Алматы, Республика Казахстан

<sup>2</sup> Казахский НИИ перерабатывающей и пищевой промышленности, г. Алматы, Республика Казахстан

У. Ч. Чоманов<sup>1,2</sup>, Г. Е. Жумалиева<sup>2</sup>, Г. С. Актокалова<sup>2</sup>,  
Г. Т. Жумалиева<sup>2</sup>, Д. Б. Муратханов<sup>2</sup>, М. А. Идаятова<sup>2</sup>

## КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Жумалиева Гулжан Ералиевна  
E-mail: g.zhumaliyeva@rpf.kz

## ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

## ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Чоманов, У.Ч., Жумалиева, Г.Е., Актокалова, Г.С., Жумалиева, Г.Т., Муратханов, Д.Б., & Идаятова, М.А. (2023). Получение соков на основе арбуза с высоким содержанием питательных веществ. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 32–44.  
<https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.408>

ПОСТУПИЛА: 11.07.2023

ПРИНЯТА: 15.12.2023

ОПУБЛИКОВАНА: 30.12.2023

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Данная работа была поддержана финансированием в рамках проекта Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан на 2021–2023 годы «Разработка техники и технологии хранения и комплексной и глубокой переработки бахчевых культур (арбуз, тыква и др.) для производства концентратов для соков и детского питания (пюре), кондитерских изделий» в рамках научно-технической программы BR10764970 «Разработка наукоемких технологий глубокой переработки с/х в целях расширения ассортимента и выхода готовой продукции с единицы сырья, а также снижения доли отходов в производстве продукции» на 2021–2023 г.

## АННОТАЦИЯ

**Введение:** Арбуз и тыква являются традиционными бахчевыми культурами, которые возделываются в Казахстане и во многих странах мира. Увеличение производства и потребления бахчевых культур за последнее десятилетие связано с растущим интересом потребителей к здоровому питанию. Существует огромный спрос на производство арбузного сока, что связано не только с его органолептическими показателями, такими как цвет, вкус и аромат, но и наличием значимых биологически активных соединений, такими как каротиноиды (ликопин), флавоноиды, фенольные соединения, аминокислоты и витамины. Использование местных бахчевых культур для разработки новых видов смешанных соков является актуальным и перспективным направлением.

**Цель:** Разработка рецептуры для производства смешанного сока на основе бахчевых культур (арбуз).

**Материалы и методы:** Объектами исследования являлись смешанные соки на основе арбузного сока. Полученные образцы соков на основе арбуза охарактеризованы по пищевой ценности, определены аминокислотный состав, витаминный и минеральный состав. Изучены органолептические, физико-химические и микробиологические показатели соков.

**Результаты:** Разработана рецептура смешанного сока на основе арбуза с применением яблочного, тыквенного соков и диффузионного сока шиповника. Изучены органолептические, физико-химические и микробиологические показатели соков. Образцы сока имеют оригинальные органолептические показатели, однородную консистенцию, гармоничный, хорошо сбалансированный вкус и яркий цвет. Результаты физико-химических исследований показали, что титруемая кислотность анализируемых соков находится в пределах 0,9–1,9 ммоль Н<sup>+</sup>/100 г, активная кислотность – 3,9–4,3 ед. рН. Содержание дрожжей и КМАФАнМ находятся в пределах санитарных норм и правил, виды плесени и колиформы не обнаружены. Добавление сока шиповника оказывает положительное влияние на содержание витаминов С, В<sub>1</sub>, и В<sub>2</sub> и увеличивается на 47 %, 14 %, 23 % соответственно. Помимо витаминов, смешивание соков также способствует значительному увеличению содержания аргинина, метионина, пролина и магния.

**Выводы:** В результате проведенных исследований разработана рецептура смешанного сока на основе арбуза с добавлением сока тыквы и диффузионного сока шиповника. Смешанный сок является ценным источником биологически активных соединений, оказывают освежающее и общеукрепляющее действие на организм. Переработка арбуза позволит решить проблему переработки бахчевого сырья и позволит расширить ассортимент отечественных напитков с высокой пищевой и биологической ценностью.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

арбузный сок; тыквенный сок; яблочный сок; диффузионный сок шиповника; смешанный сок; технология





# Production of Nutrient-Rich Watermelon-Based Juices

<sup>1</sup> National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, Almaty, Republic of Kazakhstan

<sup>2</sup> Kazakh Research Institute of Processing and Food Industry, Almaty, Republic of Kazakhstan

Urishbai C. Chomanov<sup>1,2</sup>, Gulzhan Y. Zhumaliyeva<sup>2</sup>,  
Gulnara S. Aktokalova<sup>2</sup>, Gaziza T. Zhumaliyeva<sup>2</sup>,  
Dulat B. Muratkhanov<sup>2</sup>, Marzhan A. Idayatova<sup>2</sup>

## CORRESPONDENCE:

Zhumaliyeva Gulzhan Yeralievna

Address: Almaty, Republic of Kazakhstan  
E-mail: g.zhumaliyeva@rpf.kz

## DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

## FOR CITATIONS:

Chomanov, U.Ch., Zhumaliyeva, G.Ye., Aktokalova, G.S., Zhumaliyeva, G.T., Muratkhanov, D.B., & Idayatova, M.A. (2023). Production of nutrient-rich watermelon-based juices. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 32–44. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.408>

RECEIVED: 11.07.2023

ACCEPTED: 15.12.2023

PUBLISHED: 30.12.2023

## DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.

## FUNDING

This study was supported by funding within the framework of the project of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan for 2021–2023 "Development of techniques and technologies for storage and comprehensive and deep processing of melon crops (watermelon, pumpkin, etc.) for the production of concentrates for juices and baby food (puree), confectionery products" within the scientific and technical program BR10764970 "Development of high-tech technologies for deep processing of agricultural products in order to expand the assortment and increase the output of finished products per unit of raw material, as well as reduce the share of waste in the production of products" for 2021–2023.

## ABSTRACT

**Introduction:** Watermelon and pumpkin are traditional melon crops cultivated in Kazakhstan and many countries worldwide. The recent decade has seen an increase in the production and consumption of melon crops due to growing consumer interest in healthy eating. There is a significant demand for watermelon juice production, not only because of its organoleptic properties like color, taste, and aroma, but also due to significant bioactive compounds such as carotenoids (lycopene), flavonoids, phenolic compounds, amino acids, and vitamins. Utilizing local melon crops to develop new types of mixed juices is a relevant and promising direction.

**Purpose:** To develop a recipe for the production of mixed juice based on melon crops (watermelon).

**Materials and Methods:** The objects of study were mixed juices based on watermelon juice. The obtained watermelon juice samples were characterized by nutritional value, determined amino acid composition, and vitamin and mineral content. Organoleptic, physicochemical, and microbiological indicators of the juices were studied.

**Results:** A recipe for mixed juice based on watermelon was developed using apple, pumpkin juices, and diffusion juice of rose hips. Organoleptic, physicochemical, and microbiological indicators of the juices were studied. The juice samples have original organoleptic indicators, a uniform consistency, a harmonious, well-balanced taste, and a bright color. Physicochemical research showed that the titratable acidity of the analyzed juices is within 0.9–1.9 mmol H<sup>+</sup>/100 g, active acidity – 3.9–4.3 pH units. Yeast and total microbial counts are within sanitary standards and regulations, molds and coliforms not detected. Adding rosehip juice positively affects the content of vitamins C, B<sub>1</sub>, and B<sub>3</sub>, increasing by 47 %, 14 %, 23 % respectively. Besides vitamins, mixing juices also significantly increases the content of arginine, methionine, proline, and magnesium.

**Conclusion:** As a result of the conducted research, a recipe for mixed juice based on watermelon with the addition of pumpkin juice and diffusion rosehip juice was developed. The mixed juice is a valuable source of bioactive compounds, providing a refreshing and strengthening effect on the body. Watermelon processing will solve the problem of processing melon raw materials and expand the range of domestic beverages with high nutritional and biological value.

## KEYWORDS

watermelon juice; pumpkin juice; apple juice; diffusion rosehip juice; mixed juice; technology





## ВВЕДЕНИЕ

В последние годы пищевая промышленность проявила возросший интерес к разработке функциональных продуктов питания, включая фруктовые и овощные соки. Это связано с увеличением осведомленности населения о питании и здоровье, а также их требованием к высококачественной пище, способной приносить пользу и улучшать здоровье. В связи с этим, возрастает интерес исследователей к бахчевым культурам и продуктам ее переработки (Rico et al., 2020; Rolnik & Olas, 2020; Salehi et al., 2019; Kostecka-Gugala et al., 2020).

Производство бахчевых культур в Республике Казахстан носит сезонный характер. В Казахстане производство бахчевых культур осуществляется в следующих регионах: Южно-Казахстанская, Кызылординская, Юго-Восточная, Восточно-Казахстанская и Атырауская, это связано с подходящими почвенно-климатическими условиями (Умбетаев и др., 2015). По данным бюро национальной статистики, в Казахстане урожай овощей, бахчевых, корнеплодов и клубнеплодов в 2021 году составил 11,9 млн тонн. В их числе 1,4 млн тонн дыни, 1,4 млн тонн арбузов и 201,9 тыс. тонн тыквы<sup>1</sup>. При этом производство плодовоовощной продукции не покрывает потребностей населения, для круглогодичного обеспечения ими население необходимо осуществлять их переработку.

Арбуз (*Citrullus lanatus*) является крупнейшей бахчевой культурой потребляемой во всем мире, глобальная площадь выращивания которой составляет 305 миллионов гектаров в 2020 году, а производство насчитывает более 100 миллионов тонн (Rong et al., 2022). Увеличение мирового производства и потребления арбузов в последнее десятилетие связано с растущим интересом потребителей к здоровому питанию. У арбуза великолепное питательное значение в связи с его химическим составом, что позволяет рассматривать его как продукт, способствующий улучшению здоровья (Rong et al., 2022). Арбуз содержит биологически активные вещества, такие как ликопин и β-каротин, витамин С и полифенолы, которые обладают противовоспалительными, противоопухолевыми, антиоксидантными и кардиопротекторными свойствами (Maoto et al., 2019; Rico et al.,

2020; Martinez-Sanchez et al., 2017). Плоды арбуза имеют гладкую толстую кожуру, мясистую мякоть и водянистый сок. Цвет мякоти варьируется от одного сорта к другому. Различный цвет мякоти арбузов объясняется присутствием в них каротиноидов. Ликопин является основным пигментом арбузов с красной мякотью. Было установлено, что плоды арбуза богаты витаминами А и С с небольшим количеством витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, фолиевой кислоты и ниацина. Он содержит минералы, такие как калий, железо, кальций, магний и фосфор в незначительных количествах, специфические аминокислоты (L-цитруллин и L-аргинин), но не содержит жиров и холестерина (Innocent et al., 2018).

Арбуз является полезным и многофункциональным продуктом, который можно использовать в производстве различных напитков и пищевых композиций, таких как нектары, фруктовые коктейли и щербеты. Арбузный сок прекрасно сочетается с йогуртами, соусами и заправками для салатов, придавая им особый вкус и аромат. Кроме того, арбуз может служить основой для фруктовых салатов и десертов, добавляя им свежести и сладости. Арбузные выжимки могут быть использованы в качестве полуфабриката в кондитерской промышленности, при производстве мороженого и пюре (Sadji et al., 2018). При переработке арбуза образуются побочные продукты, в основном состоящих из кожуры (30–41 %) и семян (2 %) (Rico et al., 2020). Кожура арбуза, дыни и тыквы в основном состоит из общего количества пищевых волокон и других углеводов, а также значительного содержания аминокислот, включая цитруллин, который обладает антиоксидантными и сосудорасширяющими свойствами (Rico et al., 2020; Reddy, 2014). Использование арбуза и его побочных продуктов позволяет эффективно использовать все его компоненты, что способствует снижению отходов и увеличению устойчивости производства.

Другой широко выращиваемой бахчевой культурой является тыква. Плоды тыквы и продукты ее переработки становятся все более популярными в сельском хозяйстве, медицине и пищевой промышленности, благодаря своим питательным и укрепляющим здоровье свойствам. На протяжении десятилетий было проведено несколько

<sup>1</sup> Сапуар А (2022). Что посеешь: в Казахстане подсчитали урожай 2021 года. <https://lsm.kz/urozhaj-kul-tur-za-2021-god>

исследований активных ингредиентов тыквенной кожуры, мякоти и семян, чтобы дать краткое представление об их воздействии на здоровье, которые продемонстрировали его противовоспалительное, антибактериальное, противораковое, противодиабетическое и антигипертензивные свойства, связанные с этим средством для лечения диабета. Мякоть (72–76 %) и семена (3,1–4,4 %) являются основными компонентами тыквы. В мякоти тыквы содержатся полисахариды, красители, аминокислоты, активные белки и минеральных элементов (калий, фосфат и магний). Тыква часто используется в качестве ингредиента в пирогах, супах, рагу и хлебобулочных изделиях. Тыквенные семечки используются в качестве компонента хлеба, салями, колбасы, майонеза и многих других пищевых продуктов, а также высококачественного масла, а также являются хорошим источником белка, незаменимых жирных кислот (омега-3 и омега-6 жирные кислоты) и пищевых волокон (Batoool et al., 2022; Rico et al., 2020; Nosen et al., 2021). Следует отметить, что химический состав тыквы варьирует в зависимости от вида и ботанического сорта, выращиваемых в различных регионах (Batoool et al., 2022).

Пути для более продолжительного периода потребления бахчевых культур довольно многочисленны: их сушат, перерабатывают на цукаты, повидло, варенье, джем, соки, консервируют, солят, маринуют. За счет интенсивной и глубокой переработки бахчевых культур можно получить продукцию длительного хранения и высокого качества с сохранением максимума полезных веществ. Соки — наиболее ценная составная часть плодов, ягод и овощей. Они содержат много водорастворимых биологически активных и легкоусвояемых веществ. Хотя состав фруктовых и овощных соков отличается от состава съедобной части фруктов и овощей, они содержат полифенолы, витамины и минералы фруктов и овощей. Фактически было подтверждено, что потребление овощного сока помогает достичь рекомендаций по ежедневному потреблению овощей, а употребление фруктового сока также было эффективным способом дополнения фруктов (Zheng et al., 2017).

Производство фруктовых и овощных соков ежегодно увеличивается на 7–15 %, что свидетельствует о их популярности среди потребителей. Фруктовые и овощные соки, содержащие натуральные

добавки, обеспечивают организм питательными веществами, такими как витамины, минералы и аминокислоты, которые могут быть нехваткой в ежедневной диете. Эти соки представляют собой наиболее ценную часть плодов, ягод и овощей и содержат водорастворимые биологически активные вещества, которые легко усваиваются организмом. Соки также содержат ряд соединений, таких как аскорбиновая кислота,  $\alpha$ -токоферол, каротиноиды и полифенолы, которые могут снижать риск развития хронических дегенеративных заболеваний, включая рак и сердечно-сосудистые расстройства. Это достигается благодаря совместному действию биологически активных соединений (Attanzio et al., 2022; Wang et al., 2022).

Использование местных бахчевых культур для производства соков и безалкогольных напитков имеет несколько преимуществ. Во-первых, это позволит сократить затраты на импорт фруктов и овощей из других стран. Во-вторых, местные культуры могут быть более приспособлены к климатическим условиям и почвам Казахстана, что повышает устойчивость производства. В-третьих, использование местных бахчевых культур позволит сохранить культурное наследие и способствовать развитию сельского хозяйства в регионе. В связи с этим, разработка комплексной и рациональной переработки нетрадиционного местного сырья для производства безалкогольных напитков и соков является актуальным и перспективным направлением.

Производство смешанных соков является обычной практикой, поскольку многие свежесжатые соки либо слишком кислые, либо обладают интенсивным вкусом, чтобы быть приятными для употребления. Следовательно, смешивание соков из разных фруктов и овощей позволит найти подход к улучшению качества питания населения и обогатить рацион витаминами, макро и микроэлементами. Разные фрукты и овощи обладают разными функциональными свойствами. Используя растительное сырье богатое теми или иными БАВ можно разрабатывать рецептуры смешанных соков с заданными параметрами, имеющими большее профилактическое значение, чем моносоки (соки из одного вида сырья) (Ovcharenko et al., 2018; Belyaev et al., 2016). В процессе обработки использовались созревшие сорта арбуза, тыквы, яблоки, диффузионный сок шиповника. Эти продукты питания обладают вы-

соками вкусовыми качествами, имеют низкий гликемический индекс, утоляют жажду и являются продуктами массового потребления. С целью увеличения срока хранения соков они были подвергнуты пастеризации. В настоящее время фруктовые соки нагревают при различных температурах (с 72 до 108 °C) и временных сочетаниях (>15 с или >30 с до 30 минут) (Chen, 2013). Исследования (Oms-Oliu et al, 2009; Alam et.al., 2013) показали, что высокотемпературная кратковременная пастеризация является эффективным методом инактивации микроорганизмов и ферментов. Mandha и др. (Mandha et al., 2023) исследовали влияние условий пастеризации и хранения на микробиологические, физико-химические и питательные качества соков (арбузный, ананасовый и манговый). Соки пастеризовали при температуре  $80 \pm 2$  °C и выдерживали при различном времени обработки (1, 2, 5, 10 и 15 мин). Результаты показали, что для поддержания качества, устранения фоновой микрофлоры и инактивации ферментов в соках арбуза и манго может применяться время пастеризации 5 минут.

Цель данной статьи: разработка рецептуры и получение смешанного сока на основе арбуза с высоким содержанием питательных веществ, изучение органолептических, физико-химических и микробиологических показателей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объекты исследования

Объектами исследования являются смешанные соки на основе арбуза. В качестве контрольного образца использовали арбузный сок прямого отжима. Для получения сока прямого отжима использовали только свежие, зрелые, неиспорченные местные овощи и фрукты в период сбора урожая. Для повышения пищевой и биологической ценности и улучшения потребительских свойств в рецептуру опытных образцов включали сок прямого отжима

из тыквы (*Cucurbita mochata* Duch.ex.Poir.) или яблок (*Malus domestica* Golden Delicious) и диффузионный сок шиповника.

### Оборудование

Соковыжималка, центрифуга, гомогенизаторы пастеризатор. Диффузионный сок шиповника получали с помощью гомогенизатора Bandelin Sonopuls UW 2200 с ультразвуковым преобразователем с частотой колебаний 20 кГц и крутящим моментом 70 Nm и нагревали до температуры 65–75 °C, с последующим фильтрованием через марлю. В результате получился однородная по всей массе, темно-коричневая жидкость. Содержание сухих веществ соков определяли на рефрактометре СНЕЛ-104. Активную кислотность измеряли на рН-метре Testo 206-pH1. Содержание натрия и магния определяли с помощью атомно-абсорбционного спектрометра КВАНТ-Z.ЭТА, содержание железа на фотометре КФК-3-01. Содержание аминокислот, витаминов, сахаров и  $\beta$ -каротина определяли с помощью ВЭЖХ Agilent-1200.

### Методы

Изучение физико-химических и органолептических показателей экспериментальных образцов проводили с использованием стандартных методик. Органолептическая оценка проводилась по таким показателям как внешний вид, вкус, консистенция и аромат.

Титруемую и активную кислотность определяли по ГОСТ ISO 750–2013<sup>2</sup>. Содержание натрия и магния с помощью атомно-абсорбционной спектрометрии по ГОСТ Р 51429–99<sup>3</sup>. Содержание железа атомно-эмиссионным методом по ГОСТ 30538–97<sup>4</sup>. Содержание витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub> методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии по ГОСТ 32903–2014<sup>5</sup>, витамина В<sub>3</sub>

<sup>2</sup> ГОСТ ISO 750–2013. (2019). *Продукты переработки фруктов и овощей. Определение титруемой кислотности*. М.: Стандартинформ.

<sup>3</sup> ГОСТ Р 51429–99. (2010). *Соки фруктовые и овощные. Метод определения содержания натрия, калия, кальция и магния с помощью атомно-абсорбционной спектрометрии*. М.: Стандартинформ.

<sup>4</sup> ГОСТ 30538–97. (2007). *Продукты пищевые. Методика определения токсичных элементов атомно-эмиссионным методом*. М.: Стандартинформ.

<sup>5</sup> ГОСТ 32903–2014. (2014). *Продукция соковая. Определение водорастворимых витаминов: тиамин (В<sub>1</sub>), рибофлавин (В<sub>2</sub>), пиридоксин (В<sub>6</sub>) и никотинамида (РР) методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии*. М.: Стандартинформ.

по ГОСТ EN 15652–2015<sup>6</sup> и витамина В<sub>5</sub> по ГОСТ Р 53185–2008<sup>7</sup>, β-каротин при помощи ВЭЖХ по ГОСТ EN 12823–2–2014<sup>8</sup>, витамин С ферментативным методом по ГОСТ 31717–2012<sup>9</sup>. Аминокислотный состав согласно по ГОСТ 34230–2017<sup>10</sup>, углеводный состав по ГОСТ 31669–2012<sup>11</sup>. Микробиологические показатели определяли по ГОСТ 10444.15–94<sup>12</sup>, ГОСТ 10444.12–2013<sup>13</sup>, бактерии группы кишечных палочек (колиформ) согласно ГОСТ 31747–2012<sup>14</sup>. Содержания растворимых сухих веществ определяли рефрактометрически по ГОСТ 51433–99<sup>15</sup>.

## Процедура исследования

В лабораторных условиях готовили смешанный арбузный сок. Созревший арбуз, тыквы и яблоки мыли под проточной водой температурой 20–25 °С, вручную разрезали на дольки, очищали от кожуры и у арбуза от белого слоя мякоти толщиной не более 10–15 мм, нарезали мякоть арбуза, яблоки и тыквы на крупные куски и удаляли семена. Затем пропускали через соковыжималку и центрифугировали в течение 20 мин при 1000 об/мин. Далее фильтровали, смешивали и пастеризовали при температуре 80–85 °С в течение 5–7 мин. Пастеризованные соки разливали в стерильную стеклянную упаковку, затем закатывали и охлаждали до температуры 18–20 °С и отправляли на хранение при температуре от 0 °С до 25 °С не более одного года по ГОСТ 32100–2013. Технологическая схема приготовления смешанного сока изображена на Рисунке 1.

**Рисунок 1**

Технологическая схема приготовления смешанного сока на основе арбуза



<sup>6</sup> ГОСТ EN 15652–2015 (2016). *Продукты пищевые. Определение ниацина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии*. М.: Стандартинформ.

<sup>7</sup> ГОСТ Р 53185–2008 (2010). *Напитки безалкогольные и слабоалкогольные тонизирующие. Методы испытания*. М.: Стандартинформ.

<sup>8</sup> ГОСТ EN 12823–2 — 2014 (2016). *Продукты пищевые. Определение содержания витамина А методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Часть 2. Измерение содержания бета-каротина*. М.: Стандартинформ.

<sup>9</sup> ГОСТ 31717–2012. (2019). *Соки и соковая продукция. Идентификация. Определение аскорбиновой кислоты ферментативным методом*. М.: Стандартинформ.

<sup>10</sup> ГОСТ 34230–2017 (2018). *Продукция соковая. Определение свободных аминокислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии*. М.: Стандартинформ.

<sup>11</sup> ГОСТ 31669–2012. (2019). *Продукция соковая. Определение сахарозы, глюкозы, фруктозы и сорбита методом высокоэффективной жидкостной хроматографии*. М.: Стандартинформ.

<sup>12</sup> ГОСТ 10444.15–94. (2010). *Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов*. М.: Стандартинформ.

<sup>13</sup> ГОСТ 10444.12–2013. (2014). *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов*. М.: Стандартинформ.

<sup>14</sup> ГОСТ 31747–2012. (2013). *Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)*. М.: Стандартинформ.

<sup>15</sup> ГОСТ 51433–99. (2008). *Соки фруктовые и овощные. Метод определения содержания растворимых сухих веществ рефрактометром*. М.: Стандартинформ.



Была разработана рецептура приготовления смешанного сока на основе бахчевых культур. Рассмотрено множество бахчевых культур по химическому составу, рецептурными ингредиентами смешанного сока был выбран арбуз и тыква.

Для повышения биологической ценности продукта и органолептических показателей были выбраны яблочный сок и диффузионный сок шиповника.

Для разработки рецептуры смешанного сока на основе арбузного сока и определения оптимального количества добавляемых соков из яблок, тыквы и диффузионного сока шиповника были приготовлены образцы смешанных соков с различными вносимыми дозировками. Лабораторные образцы смешанных соков готовили со следующими соотношениями компонентов, представленными в Таблице 1.

**Таблица 1**

Образцы соков с различными соотношениями

Образцы	Комбинации	Соотношение, %
Образец 1	Контроль, арбузный сок	100
Образец 2	Арбузный сок + яблочный сок	90:10
Образец 3	Арбузный сок + яблочный сок	80:20
Образец 4	Арбузный сок + яблочный сок	70:30
Образец 5	Арбузный сок + диффузионный сок шиповника	95:5
Образец 6	Арбузный сок + диффузионный сок шиповника	90:10
Образец 7	Арбузный сок + диффузионный сок шиповника	85:15
Образец 8	Арбузный сок + тыквенный сок	85:15
Образец 9	Арбузный сок + тыквенный сок	70:30
Образец 10	Арбузный сок + тыквенный сок	65:45

Соки получали методом прямого отжима отдельно для каждого вида сырья путем механического воздействия. Используемые компоненты для арбузного сока (яблочный сок, тыквенный сок, диффузионный сок шиповника) смешивали в соответствии с рецептурой. Технологический процесс производства арбузного сока состоит из следующих стадий: приемка и подготовка сырья, мойка, очистка, извлечение сока, центрифугирование, смешивание, пастеризация, розлив с стеклянную упаковку, охлаждение и хранение.

## Анализ данных

Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась с помощью Microsoft Excel 2010.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Производства соков, направленные на сохранение и увеличение питательной ценности, предоставляют перспективные возможности для создания продуктов, способствующих здоровому образу жизни. Например, увеличение содержания питательных веществ в соках из бахчевых культур может сыграть ключевую роль в поддержании общественного здоровья.

В последние годы отечественные и зарубежные ученые активно работают над созданием соков и напитков из дыни, тыквы, в меньшей степени из арбузов (Мамбеталиева и др., 2016; Сыздыкова и др., 2022; и др., Гаджиева и др., 2020). Известна технология диетического купажируемого сока из лимона, тыквы и крапивы (Омаров и др., 2017). Купажированный сок рекомендуется употреблять при немедикаментозном лечении различных заболеваний желудочно-кишечного тракта, печени, почек, авитаминозе и для повышения иммунитета по 100 мл 3 раз в день за 15–20 мин. до еды в течение 4–8 недель.

Был разработан купажируемый сок из тыквы, шиповника и хурмы в соотношении 50:30:20 (Кязимова и др., 2018). В результате исследований стало известно, что купажируемый сок более богат глюкозой, фруктозой, фенольными соединениями и другими веществами, чем каждый из соков в отдельности. Овчаренко и др. (2018) рассмотрели 4 композиции различающиеся по соотношению ингредиентов. По результатам органолептической оценки была выбрана рецептура сока, включающая в расчете на 1 л, 450 мл сока из мелкоплодных яблок, 400 мл сока из тыквы, 100 мл сиропа из рябины, 25 мл меда и 25 мл воды.



## Органолептические и физико-химические показатели соков

Результаты органолептической оценки качества арбузного сока с различными дозировками яблочного и тыквенного соков и диффузионного сока шиповника представлены в Таблице 2.

В ходе органолептической оценки у всех полученных образцов соков отмечалась непрозрачная консистенция с выпадением осадка, запах и вкус с увеличением дозировки соков из тыквы прояв-

ляются более выраженными, от светло-розового до ярко-выраженного оранжевого цвета. Все образцы смешанных соков были мутноватыми, неосветленными, но это вполне допустимо и хорошо воспринимается большинством потребителей. Физико-химические показатели представлены в Таблице 3.

Для всех исследуемых соков значения pH изменяются в пределах 3,1–5,6 ед. Титруемая кислотность изменяется в пределах 0,2–1,6 ммольН<sup>+</sup>/100 г. С добавлением 15% диффузионного сока ши-

**Таблица 2**

Органолептическая оценка качества сока с различным соотношением яблочного, тыквенного соков и диффузионного сока шиповника, (в %)

Образцы		Наименование показателя		
		Вкус	Цвет	Внешний вид и консистенция
Образец 1 (контроль)		Арбузный	Однородный по всей массе, светло-розовый	Непрозрачный, без мякоти с осадками
Яблочный сок		Яблочный	Однородный по всей массе, светло-желтый	
Тыквенный сок		Тыквенный	Однородный по всей массе, оранжевый	
Диффузионный сок шиповника		Кислый	Однородный по всей массе, темно-коричневый	
С яблочным соком	10	Арбузный	Однородный по всей массе, светлый с коричневатым оттенком	
	20	Арбузный вкус с легким яблочным привкусом, не кислый		
	30	Выраженный арбузный вкус с яблочным привкусом, кисловатый		
С диффузионным соком шиповника	5	Арбузный	Однородный по всей массе, розовый	
	10	Арбузный		
	15	Арбузный, кисловатый	Однородный по всей массе, темно-розовый	
С тыквенным соком	15	Арбузный вкус с нежный и легким тыквенным привкусом	Однородный по всей массе, розовый с легким оранжевым оттенком	
	30	Арбузный вкус с тыквенным привкусом, не кислый	Однородный по всей массе, розовый с насыщенно оранжевым оттенком	
	45	Арбузный вкус с выраженным тыквенным привкусом	Однородный по всей массе, оранжевый	
Арбузно-тыквенно-шиповниковый		Арбузный вкус с тыквенным привкусом, с легкой кислинкой	Однородный по всей массе, темновато-розовый с темно-оранжевым оттенком	

Таблица 3

Физико-химические показатели соков

Образцы	Наименование показателя		
	Титруемая кислотность, ммоль Н <sup>+</sup> /100 г	Активная кислотность, ед. рН	Содержание растворимых сухих веществ, °Brix
Образец 1 (контроль)	0,9	4,3	8,1
Яблочный сок	1,3	3,1	13,3
Тыквенный сок	0,2	5,6	7,8
Диффузионный сок шиповника	1,1	3,5	5,3
С яблочным соком	10	0,9	8,3
	20	1,0	8,6
	30	1,2	20,1
С диффузионным соком шиповника	5	0,9	8,4
	10	1,1	8,5
	15	1,6	8,7
С тыквенным соком	15	1,2	8,4
	30	1,3	14,6
	45	1,4	14,8

повника титруемая кислотность соков увеличивается на 0,7 ммольН<sup>+</sup>/100 г, по сравнению с другими образцами и по цвету сок получается темнее. Добавление яблочного сока в количестве 10–20 % практически не влияет на внешний вид, цвет, вкус и на аромат продукта, при добавлении 30 % сок значительно темнеет, ощущается привкус яблокс кислоткой. При добавлении тыквенного сока в количестве до 30 % цвет напитка становится оранжевым, вкус и запах — тыквенный, а при добавлении 45 % появляется ярко выраженный привкус тыквы и цвет напитка становится янсыщенно-оранжевым. Учитывая результаты проведенных исследований благоприятную оценку получили соки, полученные на основе арбуза с добавлением 20 % яблочного сока, 10 % диффузионного сока шиповника и 30 % тыквенного сока.

Концентрация сока шиповника может значительно влиять на вкус смешанного сока. Комбинирование трех различных соков позволяет достичь более сложного и насыщенного вкуса. Определенное количество кислоты, представленной шиповником, может придать смешанному соку особый вкус и аромат. 10 % концентрация шиповника может обеспечить достаточное количество кислотности, чтобы придать соку пикантность и освежающий

характер без избыточной кислотности, которая может быть присутствовать при более высокой концентрации шиповника.

Таким образом, добавление третьего компонента, диффузионного сока шиповника, позволяет улучшить вкусовые качества и функциональные свойства сока, расширяет его ассортимент и повышает его ценность для потребителя.

На основе полученных оптимальных вариантов был разработан арбузно-тыквенно-шиповниковый сок, в то время как из-за непривлекательного цвета и кисловатого вкуса яблочный сок было решено не использовать при смешивании соков, и впоследствии был выбран арбузно (60 %)-тыквенный (30 %)-шиповниковый (10 %) сок.

Арбузно-тыквенно-шиповниковый сок имеет натуральный и приятно выраженный арбузно-тыквенный аромат (диффузионный сок шиповника не имеет запаха). Благодаря оптимально подобранной дозировке наполнителя смешанный сок обладает приятным вкусом и однородной консистенцией. Исследования показывают, что арбузно-тыквенно-шиповниковый сок можно производить из бахчевых культур в целях повышение

пищевой ценности и для расширения ассортимента соков. В Таблице 4 представлены данные по содержанию  $\beta$ -каротина, сахаров и титруемой кислотности в образце сока из арбуза, тыквы и шиповника.

**Таблица 4**

Физико-химические показатели и состав сахаров соков

Наименование показателя	Арбузный	Арбузно-тыквенно-шиповниковый
Титруемая кислотность, ммольН <sup>+</sup> /100 г	1,2	1,6
Содержание $\beta$ -каротина, мг/100 г	0,073	0,753
Сахароза, г/100 г	5,5	4,9
Глюкоза, г/100 г	1,3	—
Фруктоза, г/100 г	11,5	4,0

Плоды тыквы и арбуза содержат минералы и  $\beta$ -каротин. Содержание каротина в плодах тыквы составляет 16–17 мг на 100 г сырого продукта (Nincevic Grassino, 2023). Однако при получении сока методом прямого отжима практически полностью теряется  $\beta$ -каротин. Содержание  $\beta$ -каротина (мг/100 г) составил: в арбузном соке — 0,073, в арбузно-тыквенно-шиповниковом соке — 0,753. Сравнительно высокое содержание  $\beta$ -каротина в арбузно-тыквенно-шиповниковом соке связано с добавлением сока из тыквы. Смешивание соков и нектаров, а также добавление пюре или экстрактов из фруктов с высоким содержанием каротиноидов позволяют увеличить содержание  $\beta$ -каротина в соковой продукции (Нилова, 2022).

Основную часть сухих веществ бахчевых культур составляют сахара, причем большая доля приходится на редуцирующие сахара. Как видно из Таблицы 4 общее содержание сахаров в арбузно-тыквенно-шиповниковом соке снизилось, особенно редуцирующих сахаров. Содержание фруктозы в смешанном соке уменьшилось в 2,9 раза по сравнению с арбузным соком, а глюкоза — полностью отсутствовала. Содержание растворимых сухих веществ в трехкомпонентном смешанном соке оставил 7,7 °Brix. При смешивании соков со значительно отличающимися показателями °Brix

содержание сахара в конечном продукте может снизиться на 30–50%. Производство соков с пониженным содержанием сахара представляет собой перспективное направление, заслуживающее внимания с точки зрения питания и соответствует рекомендациям ВОЗ (Cywinska-Antonik et al., 2023). Титруемая кислотность соков находится в пределах нормы согласно техническому регламенту на соковую продукцию ТР ТС 023/2011.

Исследованы микробиологические показатели безопасности полученных соков (Таблица 5).

**Таблица 5**

Микробиологические показатели безопасности соков

Наименование показателей, ед. изм.	Арбузный сок	Арбузно-тыквенно-шиповниковый
КМАФАнМ КОЕ/см <sup>3</sup> (г), не более	4*10 <sup>1</sup>	2*10 <sup>1</sup>
БГКП (колиформы) в 1,0 см <sup>3</sup> продукта, КОЕ/см <sup>3</sup> (г)	Не обнаружено	Не обнаружено
Дрожжи, КОЕ/см <sup>3</sup> (г)	1	1
Плесени, КОЕ/см <sup>3</sup> (г)	Не обнаружено	Не обнаружено

Результаты данных показывают, что все образцы по микробиологические показатели безопасности соответствуют нормативно-технической документации: СанПиН 2.3.2.1078–01<sup>16</sup> и техническому регламенту на соковую продукцию ТР ТС 023/2011<sup>17</sup>. Количественное содержание дрожжей и КМАФАнМ соответствовало норме, т. к. допустимое количество клеток микроорганизмов в 1 г продукта, не нарушающее его микробиологической стабильности в процессе хранения и не представляющее опасности для здоровья человека, составляет не более 50, дрожжи — не более 1,0. Плесени и колиформы не обнаружены.

Стоит отметить что, комбинация пастеризации и добавление 10% сока шиповника ингибирует рост общее количество микроорганизмов (КМАФАнМ, КОЕ/мл)

<sup>16</sup> СанПиН 2.3.2.1078–01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов».

<sup>17</sup> ТР ТС 023/2011 «Технический регламент на соковую продукцию из фруктов и овощей» (утвержден Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года № 882).

## Пищевая ценность соков

Исследована пищевая ценность соков (арбузный и арбузно-тыквенно-шиповниковый). В Таблице 6 представлено содержание аминокислот, витаминов и минеральных веществ.

**Таблица 6**

Витаминный, аминокислотный и минеральный состав соков

Наименование показателей, ед. измерений	Арбузный	Арбузно-тыквенно-шиповниковый
<i>Витамины, мг/100 г</i>		
B1	0,022 ± 0,004	0,025 ± 0,005
B2	0,017 ± 0,007	0,011 ± 0,005
B6	0,010 ± 0,002	0,008 ± 0,002
B3	0,015 ± 0,003	0,020 ± 0,004
B5	0,004 ± 0,001	0,002 ± 0,0003
C	2,27 ± 0,77	3,34 ± 1,14
Аминокислоты, мас. доля аминокислот, в %:	0,708	1,029
Серин	0,039 ± 0,010	0,027 ± 0,007
Гистидин	0,080 ± 0,040	0,014 ± 0,007
Глицин	0,037 ± 0,013	0,031 ± 0,010
Треонин	0,072 ± 0,029	0,043 ± 0,017
Аргинин	0,073 ± 0,029	0,678 ± 0,271
Аланин	0,093 ± 0,024	0,038 ± 0,010
Тирозин	0,054 ± 0,016	0,030 ± 0,009
Валин	0,031 ± 0,012	0,019 ± 0,007
Метионин	0,028 ± 0,009	0,031 ± 0,010
Фенилаланин	0,088 ± 0,026	0,019 ± 0,006
Лейцин+изолейцин	0,039 ± 0,010	0,027 ± 0,007
Лизин	0,050 ± 0,017	0,027 ± 0,009
Пролин	0,024 ± 0,006	0,045 ± 0,012
<i>Минеральные элементы, мг/100 г</i>		
железо	0,60 ± 0,005	0,48 ± 0,005
натрий	1,18 ± 0,01	0,32 ± 0,002
магний	0,89 ± 0,002	1,12 ± 0,002

Полученные данные показывают, что добавление диффузионного сока шиповника оказывает положительное влияние на содержание витаминов С (3,34 мг), B<sub>1</sub> (0,025 мг) и B<sub>3</sub> (0,020 мг). Помимо витаминов, смешивание арбузного сока с тыквенным со-

ком и соком шиповника также способствует значительному увеличению содержания аргинина (0,678 мг), метионина (0,031 мг) и пролина (0,045 мг). Данные также свидетельствуют о частичной потере витаминов (B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>5</sub>) и аминокислот. Эта вероятно, объясняется тем, что при смешивании соков со значительно отличающимися содержанием питательных веществ, их содержание в конечном продукте может снизиться. Стоит отметить, что, несмотря на частичную потерю витаминов и аминокислот, общая питательная ценность сока остается значительной благодаря сбалансированного и достаточного количества этих веществ.

## ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований разработана рецептура смешанного сока с добавлением сока тыквы и диффузионного сока шиповника. По органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям сок соответствовал требованиям нормативно-технической документации: СанПиН 2.3.2.1078–01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» и техническому регламенту на соковую продукцию ТР ТС 023/2011. Образец сока обладал хорошими органолептическими показателями, гармоничным вкусом и ароматом, ярким цветом, характерным для исходного растительного сырья.

Смешанный сок является ценным источником биологических соединений, обеспечивает как высокую питательную ценность, так и различные преимущества для здоровья. Полученный смешанный сок на основе арбуза охарактеризован по пищевой ценности, определены аминокислотный состав, витаминный и минеральный состав.

## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Уришбай Чоманович Чоманов:** концептуализация; методология; создание черновика рукописи; получение финансирования, создание рукописи и ее редактирование.

**Гулжан Ералиевна Жумалиева:** концептуализация; верификация данных; руководство исследованием.

**Гулнара Сундетбаевна Актокалова:** проведение исследования; создание рукописи и её редактирование; визуализация.

**Газиза Турдалиевна Жумалиева:** верификация данных; формальный анализ; проведение исследования.

**Дулат Болатулы Муратханов:** проведение исследования; администрирование данных; создание черновика рукописи.

**Маржан Амангельдиевна Идаятова:** проведение исследования; администрирование данных; создание черновика рукописи.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Гаджиева, А.М., Маллаева, Д.А., & Муртазалиев, Г.М. (2020). Купажированные плодовоовощные соки на основе томата, тыквы и моркови. В *Современные аспекты производства и переработки сельскохозяйственной продукции* (с. 419–423).
- Gadzhieva, A.M., Mallaeva, D.A., Murtazaliev, G.M. (2020). Blended fruit and vegetable juices based on tomato, pumpkin, and carrot. In *Modern Aspects of production and processing of agricultural products* (p. 419–423). (In Russ.)
- Кязимова, И.А., Хусаинова, И.Ю. & Набиев, А.А. (2018). Исследование технологии производства соков из тыквы, плодов хурмы и шиповника. *Пищевая промышленность*, (6), 53–55.
- Kyazimova, I.A., Khusainova, I.Yu., & Nabiev, A.A. (2018). Study of the technology for producing juices from pumpkin, persimmon fruits, and rose hips. *Food Industry*, (6), 53–55. (In Russ.)
- Мамбеталиева, А.Е. & Аленова, А.Б. (2016). Технология получения соков на основе арбузного сока. *Архивариус*, 10(2), 6–11.
- Mambetaliyeva, A.E. & Alenova, A.B. (2016). Technology of producing juices based on watermelon juice. *Archivarius*, 10(2), 6–11. (In Russ.)
- Нилова, Л.П. (2022). Каротиноиды в растительных пищевых системах. Часть 2. Фруктовые и овощные соки. Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: *Пищевые и биотехнологии*, 10(2), 22–33. <https://doi.org/10.14529/food220203>
- Nilova, L.P. (2022). Carotenoids in plant food systems. Part 2. Fruit and vegetable juices. *Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnologies*, 10(2), 22–33. (In Russ.) <https://doi.org/10.14529/food220203>
- Овчаренко, А.С., Расулова, Е.А., Иванова, О.В., & Величко, Н.А. (2018). Купажированные плодовоовощные соки на основе мелкоплодных яблок, тыквы, рябины и меда. Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий, 80(3), 111–115. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2018-3-111-115>
- Ovcharenko, A.S., Rasulova, E.A., Ivanova, O.V., & Velichko, N.A. (2018). Blended fruit and vegetable juices based on small-fruited apples, pumpkin, rowan, and honey. *Bulletin of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 80(3), 111–115. (In Russ.) <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2018-3-111-115>
- Омаров, М.М., Абдулхаликов, З.А., & Хайтмазова, Д.Р. (2017). Производство диетического купажированного сока из крапивы, лимона и тыквы. В: Неделя науки-2017. Сборник материалов XXXVIII итоговой научно-технической конференции преподавателей, сотрудников, аспирантов и студентов Дагестанского государственного технического университета (с. 214–216). ДГТУ.
- Omarov, M.M., Abdulhalikov, Z.A., Khaitmazova, D.R. (2017). Production of dietary blended juice from nettle, lemon, and pumpkin. In the collection: Science Week-2017. Proceedings of the XXXVIII final scientific and technical conference of teachers, staff, postgraduates, and students of the Dagestan State Technical University (p. 214–216). DSU. (In Russ.)
- Скурихин, И.М., & Нестерин, М.Ф. (Ред.). (1987). *Химический состав пищевых продуктов* (кн.2: Справочные таблицы содержания аминокислот, жирных кислот, витаминов, макро- и микроэлементов, органических кислот и углеводов, 2-е изд., перераб. и доп.). Москва: Агропромиздат.
- Skurikhin, I.M., & Nesterin, M.F. (Eds.). (1987). Chemical composition of food products (vol.2: Reference tables of amino acids, fatty acids, vitamins, macro- and microelements, organic acids, and carbohydrates, 2nd ed., rev. and sup.). Moscow: Agropromizdat. (In Russ.)
- Сыздыкова, Л.С., Зарицкая, Н.Е., Абдиева, К.М., Кожахиева, М.О. (2022). Исследование пищевой и биологической ценности кислых овощных соков. Вестник Алматинского технологического университета, (2), 86–90. <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2022-1-86-90>
- Syzdykova, L.S., Zaritskaya, N.E., Abdiyeva, K.M., Kozhakhieva, M.O. (2022). Study of the nutritional and biological value of sour vegetable juices. *Bulletin of Almaty Technological University*, (2), 86–90. (In Russ.) <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2022-1-86-90>
- Умбетаев, И., Махматжанов, С., & Джунусова, М.К. (2015). Устойчивые сорта бахчевых культур к болезням на юге Казахстана. *Manas Journal of Agriculture and Life Sciences*, (1), 7–12.
- Umbetaev, I., Makhmadzhanov, S., & Djunusova, M.K. (2015). Disease-resistant varieties of melon crops in the south of Kazakhstan. *Manas Journal of Agriculture and Life Sciences*, (1), 7–12. (In Russ.)
- Alam, M.K., Hoque, M.M., Morshed, S., Akter, F. & Sharmin, K.N. (2013). Evaluation of Watermelon (*Citrullus lanatus*) juice preserved with chemical preservatives at refrigeration temperature. *Journal of Scientific Research*, 5(2), 407–414. <https://doi.org/10.3329/jsr.v5i2.12181>



- Attanzio, A., Garcia-Llatas, G. & Cilla, A. (2022). Fruit juices: technology, chemistry, and nutrition 2.0. *Beverages*, 8, 26. <https://doi.org/10.3390/beverages8020026>
- Batool, M., Ranjha, M.M.A.N., Roobab, U., Manzoor, M.F., Farooq, U., Nadeem, H.R., Nadeem, M., Kanwal, R., Abdelgawad, H., Al Jaouni, S.K., Selim, S., & Ibrahim, S. A. (2022). Nutritional Value, Phytochemical Potential, and Therapeutic Benefits of Pumpkin (*Cucurbita* sp.). *Plants*, 11(11), 1394. <https://doi.org/10.3390/plants11111394>
- Belyaev, A.A., Ivanova, O.V. & Yakotsuts, I.A. (2016). Process for the preparation of juice from fruit raw material and medals. *The World of Scientific Discoveries*, 12(84). <https://doi.org/10.12731/wsd-2016-12-78-91>
- Chen, Y., Yu, L. J. & Rupasinghe, H. V. (2013). Effect of thermal and non-thermal pasteurisation on the microbial inactivation and phenolic degradation in fruit juice: A mini-review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(5), 981–986. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5989>
- Cywinska-Antonik, M., Chen, Z., Groele, B. & Marszalek, K. (2023). Application of emerging techniques in reduction of the sugar content of fruit juice: current challenges and future perspectives. *Foods*, 12(6), 1181. <https://doi.org/10.3390/foods12061181>
- Hosen, M., Rafii, M.Y., Mazlan, N., Jusoh, M., Oladosu Y., Chowdhury M.F.N., Muhammad I., & Khan M.M.H. (2021). Pumpkin (*Cucurbita* spp.): A crop to mitigate food and nutritional challenges. *Horticulturae*, 7(10), 352. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100352>
- Innocent, K., & Matenda, R.T. (2018). Postharvest technology and value addition of watermelons (*Citrullus lanatus*): An overview. *International Journal of Postharvest Technology and Innovation*, 6(2), 75–83.
- Kostecka-Gugala, A., Kruczek, M., Ledwozyw-Smolen, I., & Kaszycki, P. (2020). Antioxidants and health-beneficial nutrients in fruits of eighteen *Cucurbita* cultivars: Analysis of diversity and dietary implications. *Molecules*. 2020, 25(8), 1792. <https://doi.org/10.3390/molecules25081792>
- Maoto M.M., Beswa D. & Jideani A.I.O. (2019). Watermelon as a potential fruit snack. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 355–370. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1584212>
- Martinez-Sanchez, A., Alacid, F., Rubio-Arias, J.A., Fernandez-Lobato, B., Ramos-Campo, D.J., & Aguayo, E. (2017). Consumption of watermelon juice enriched in L-citrulline and Pomegranate ellagitannins enhanced metabolism during physical exercise. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 4395–4404. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00586>
- Nincevic Grassino, A., Rimac Brncic, S., Badanjak Sabolovic, M., Sic, Zlabur J., Marovic, R., & Brncic, M. (2023). Carotenoid content and profiles of pumpkin products and by-products. *Molecules*, 28(2), 858. <https://doi.org/10.3390/molecules28020858>
- Nyam, K. L., Lau, M., & Tan, C. P. (2013). Fibre from pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds and rinds: Physico-chemical properties, antioxidant capacity and application as bakery product ingredients. *Malaysian Journal of Nutrition*, 19(1), 99–109.
- Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., & Mart'ınBelloso, O. (2009). Effects of high-intensity pulsed electric field processing conditions on lycopene, vitamin C and antioxidant capacity of watermelon juice. *Food Chemistry*, 115, 1312–1319. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.049>
- Ovcharenko, A., Rasulova, E., Ivanova, O., & Velichko, N. (2018). Blended fruit and vegetable juices based on small-fruited apples, pumpkin, mountain ash and honey. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 80, 111–115. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2018-3-111-115>
- Reddy, N.A., Lakshmipathy, R., & Sarada, N.C. (2014). Application of *Citrullus lanatus* rind as biosorbent for removal of trivalent chromium from aqueous solution. *Alexandria Engineering Journal*, 53(4), 969–975. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2014.07.006>
- Rico, X., Gullon, B., Alonso, J. L., & Yanez, R. (2020). Recovery of high value-added compounds from pineapple, melon, watermelon and pumpkin processing by-products: An overview. *International Food Research Journal*, 132, 109086. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109086>
- Rolnik, A., & Olas, B. (2020). Vegetables from *Cucurbitaceae* family and their products; positive effect on human health. *Nutrition*, 110788. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110788>
- Rong, J., Fu, J., Zhang, Z., Yin, J., Tan, Y., Yuan, T., & Wang, P. (2022). Development and evaluation of a watermelon-harvesting robot prototype: Vision system and end-effector. *Agronomy*, 12, 2836. <https://doi.org/10.3390/agronomy1211283>
- Saavedra, M. J., Aires, A., Dias, C., Almeida, J. A., De Vasconcelos, M. C. B. M., Santos, P., & Rosa, E. A. (2015). Evaluation of the potential of squash pumpkin by-products (seeds and shell) as sources of antioxidant and bioactive compounds. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 1008–1015. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1089-5>
- Sadji M., Ndiaye N.F., Maurice, S. Zongo, C., Traore Y., Sall, M. & Traore, A. (2018) Production of puree and watermelon (*Citrullus lanatus*) juice usable in bread making. *Journal of Food, Nutrition and Population Health*, 2. <https://doi.org/10.21767/2577-0586.100031>
- Salehi, B., Capanoglu, E., Adrar, N., Catalkaya, G., Shaheen, S., Jaffer, M., Giri, L., Suyal, R., Jugran, A.K., Calina, D., Docea, A.O., Kamiloglu, S., Kregiel, D., Antolak, H., Pawlikowska, E., Sen, S., Acharya, K., Selamoglu, Z., Sharifi-Rad, J., Martorell, M., Rodrigues, C.F., Sharopov, F., Martins, N., & Capasso, R. (2019). Cucurbits plants: A key emphasis to its pharmacological potential. *Molecules*, 24(10), 1854. <https://doi.org/10.3390/molecules24101854>
- Wang, H., Yuan J., Chen L., Ban Z., Zheng Y., Jiang Y., Jiang Y. & Li X. (2022). Effects of fruit storage temperature and time on cloud stability of not from concentrated apple juice. *Foods*, 11, 2568. <https://doi.org/10.3390/foods11172568>
- Zheng J., Zhou, Y., Li, S., Zhang, P., Zhou, T., Xu, D.P., & Li, H.B. (2017). Effects and mechanisms of fruit and vegetable juices on cardiovascular diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 555. <https://doi.org/10.3390/ijms18030555>

# Анализ биологически активных веществ пчелиного маточного молочка и коровьего молозива с целью создания комплексной биологически активной добавки

<sup>1</sup> ТОО «Казахский НИИ перерабатывающей и пищевой промышленности», г. Алматы, Республика Казахстан

<sup>2</sup> ООО «Свеба Дален Рус», г. Алматы, Республика Казахстан

Л. Б. Умиралиева<sup>1</sup>, Н. Л. Танькова<sup>2</sup>, М. С. Амангельдин<sup>1</sup>,  
А. Т. Ибраихан<sup>1</sup>, Р. К. Макеева<sup>1</sup>, С. М. Бармак<sup>1</sup>

## КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Умиралиева Лазат Бекеновна  
E-mail: Lumiraliyeva@rpf.kz

## ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

## ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Умиралиев, Л.Б., Амангельдин, М.С., Танькова, Н.Л., Ибраихан, А.Т., Макеева, Р.К., & Бармак, С.М. (2023). Анализ биологически активных веществ пчелиного маточного молочка и коровьего молозива с целью создания комплексной биологически активной добавки. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 45–60. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.480>

ПОСТУПИЛА: 07.05.2023

ПРИНЯТА: 15.12.2023

ОПУБЛИКОВАНА: 30.12.2023

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при поддержке финансирования научно-технической программы Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан на 2021–2023 годы BR10764970 «Разработка наукоемких технологий глубокой переработки с/х сырья в целях расширения ассортимента и выхода готовой продукции с единицы сырья, а также снижения доли отходов в производстве продукции» в рамках проекта «Разработка технологии производства и переработки маточного пчелиного молочка для пищевой промышленности».

## АННОТАЦИЯ

**Введение:** биологически активные вещества, содержащиеся в пчелином маточном молочке и коровьем молозиве, представляют собой ценный источник биологически активных компонентов, которые имеют потенциал для создания инновационных комплексных биологически активных добавок. Дана оценка потребности современного человека в специализированных продуктах.

**Цель:** разработка технологических решений для создания комплексного БАД – нутрицевтика с использованием маточного молочка пчёл, полученного по разработанной ТОО «КазНИИППП» технологии сбора и адсорбции.

**Материалы и методы.** Коровье молозиво, собранное в первые «0», «6», часов после отёла от здоровых животных, отрицательно реагирующих при исследовании на туберкулез, бруцеллез и лейкоз, третьего отёла, плотностью (1,080–1,045) г/см, pH – от 5,9 до pH 8,3 единиц. Микробиологические показатели исследуемых образцов молозива в соответствии с требованиями ТР ТС 27; маточное молочко пчёл, собранное и адсорбированное по разработанной методике исследователей «КазНИИППП»: биологические активности композиций сырья. В разработанной методике стабилизации маточного молочка были использованы критерии, включающие оценку аминокислотного и витаминного составов. Особое внимание уделялось содержанию 10-гидроксидеценной кислоты в адсорбированном продукте.

**Результаты.** Обоснован выбор нутрицевтических источников и функциональные свойства комплексного БАД – нутрицевтика. Описаны процессы сбора и хранения сырья. Приведены результаты исследований хранения сырья по основным критериям: микробиологической безопасности, титру иммуноглобулинов (IgG) в молозиве, содержанию деценовых кислот в маточном молочке. Полученные результаты послужили основанием для разработки рецептурных композиций БАД. Установлены соотношения пчелиного маточного молочка, и коровьего молозива, дана оценка эффективности комплексной БАД в соответствии с нормативными требованиями, предъявляемыми к БАД – нутрицевтику.

**Выводы.** Стандартизация сбора и хранения истинного молозива, стабилизация биологических активностей маточного молочка, полученного с использованием разработанной технологии формирования семьи-воспитательницы и применение мягких методов заморозки и адсорбции обеспечивают создание функциональных композиций маточного молочка и коровьего молозива в контролируемом процессе. Обоснованные технологические решения получения БАД на основе маточного молочка и коровьего молозива не имеют аналогов по композиции функциональных ингредиентов и эффективны с практической точки зрения.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

маточное молочко, коровье молозиво, биологически активные добавки, семья-воспитательница, функциональные композиции



# Analysis of Biologically Active Substances in Bee Royal Jelly and Bovine Colostrum for the Creation of a Complex Biologically Active Supplement

<sup>1</sup> Kazakh Research Institute of Food and Processing Industry, Almaty, Republic of Kazakhstan

<sup>2</sup> Sveba Dahlen Russia, Almaty, Republic of Kazakhstan

## CORRESPONDENCE:

**Lazat Bekenovna Umiraeva**

E-mail: [Lumiraliyeva@rpf.kz](mailto:Lumiraliyeva@rpf.kz)

## DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

## FOR CITATIONS:

Umiraeva, L.B., Amangeldin, M.S., Tankova, N.L., Ibraikhan, A.T., Makeeva, R.K., & Barmak, S.M. (2023). Analysis of biologically active substances in bee royal jelly and bovine colostrum for the creation of a complex biologically active supplement. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 45–60. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.480>

**RECEIVED:** 07.05.2023

**ACCEPTED:** 15.12.2023

**PUBLISHED:** 30.12.2023

## DECLARATION OF COMPETING

**INTEREST:** none declared.

## FUNDING

The study was conducted with the support of funding for the scientific and technical program of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan for 2021–2023, BR10764970 "Development of high-tech technologies for deep processing of agricultural raw materials to expand the assortment and increase the output of finished products per unit of raw material, as well as to reduce the share of waste in product production" within the project "Development of technology for the production and processing of royal jelly for the food industry".

## ABSTRACT

**Introduction:** Biologically active substances found in bee royal jelly and bovine colostrum are a valuable source of active components with potential for creating innovative complex dietary supplements. The modern human need for specialized products is assessed.

**Purpose:** To develop technological solutions for creating a comprehensive dietary supplement – nutraceutical using bee royal jelly, collected and adsorbed using a method developed by "KazNIIPPP".

**Materials and Methods:** Bovine colostrum, collected within the first "0", "6" hours after calving from healthy animals negative for tuberculosis, brucellosis, and leukemia, of the third calving, with a density of (1,080–1,045) g/cm, pH – from 5.9 to 8.3 units. Microbiological indicators of the studied colostrum samples in accordance with the requirements of TR TS 27; bee royal jelly, collected and adsorbed using a method developed by "KazNIIPPP" researchers: biological activities of raw material compositions. The developed method for stabilizing royal jelly included criteria assessing amino acid and vitamin compositions. Special attention was given to the content of 10-hydroxy-2-decenoic acid in the adsorbed product.

**Results:** The choice of nutraceutical sources and functional properties of the complex dietary supplement – nutraceutical are justified. The processes of collection and storage of raw materials are described. Results of the storage of raw materials according to the main criteria are presented: microbiological safety, titers of immunoglobulins (IgG) in colostrum, content of decenoic acids in royal jelly. The obtained results served as a basis for the development of dietary supplement recipes. Ratios of bee royal jelly and bovine colostrum are established, and the effectiveness of the complex dietary supplement is assessed according to the regulatory requirements for dietary supplements - nutraceuticals.

**Conclusion:** Standardization of collection and storage of true colostrum, stabilization of biological activities of royal jelly obtained using the developed technology of forming a caregiver family and the application of gentle methods of freezing and adsorption ensure the creation of functional compositions of royal jelly and bovine colostrum in a controlled process. The substantiated technological solutions for obtaining dietary supplements based on royal jelly and bovine colostrum are unique in terms of the composition of functional ingredients and are effective from a practical point of view

## KEYWORDS

royal jelly, bovine colostrum, dietary supplements, caregiver family, functional compositions



## ВВЕДЕНИЕ

Экзогенные биологически активные вещества животного и растительного происхождения имеют огромное медицинское, социальное и гуманитарное значение. Изучению применения микронутриентов человеком, с целью оздоровления, посвящены многие исследования (Тутельян и др., 2001; Тутельян и др., 2004; Awuchi et al., 2020; Jai Das et al., 2019). На основе экзогенных биологически активных веществ создаются новые прогрессивные технологии продуктов заданного химического состава и повышенной пищевой ценности, лечебных и профилактических продуктов (Dubtsova et al., 2022). Создание современных технологий специализированных продуктов является мировой тенденцией, направленной на поддержание здоровья населения и снижение расходов на медицинские услуги. По прогнозам ведущих специалистов мира в области питания и медицины, в ближайшие (15–20) лет доля функциональных продуктов достигнет 30%, при этом они на (35–50)% вытеснят из сферы реализации многие

традиционные лекарственные препараты. Биоинженерия пищевого сырья позволяет создавать продукты функционального назначения, БАД. БАД — нутрицевтики представлены, как правило, хорошо изученными биологически активными веществами, значение которых в регулировании многих жизненно важных адаптивно-защитных систем организма установлена (Рисунок 1) (Позняковский и др., 2023).

К нутрицевтическим средствам относятся: белки, полиненасыщенные жирные кислоты, витамины, провитамины, макро- микроэлементы, углеводы, пищевые волокна. Последние научные работы указывают на перспективность использования коровьего молозива и пчелиного маточного молочка, как нутрицевтических источников биологически активных белков и полиненасыщенных жирных кислот (Белов и др., 2012; Hoerr et al., 2006; Alu'datt et al., 2015; Ivanova et al., 2022).

Luo et al. (2023), Sokolova et al. (2021) и Janota-Bassalik et al. (1975) продемонстрировали, что се-

**Рисунок 1**

Функциональная роль биологически активных добавок-нутрицевтиков





крет молочных желёз здоровых коров не содержит патогенной микрофлоры, условно — патогенные микроорганизмы встречаются в единичных случаях. Из непатогенных микроорганизмов были выделены; *Staph. epidermidis* в 9.1% проб, *Staph. saprophyticus* — 18.2%, *Str. fecalis* 9.1%, *Str. bovis* 27.2%, *E. coli* 18.2%, *C. albicans* 9.1%. Секрет молочных желёз больных коров в 66% случаев были представлены стафилококками, 44% стрептококками и кишечной палочкой, 8% клебсиелл и в 24% случаях выделялись грибы. Зарубежными учёными отмечено, что из выделенных бактерий патогенными свойствами для лабораторных животных обладали 50% клебсиелл, 78,9% стафилококков (*Staph. aureus*), 79,9% стрептококков (*Str. agalactiae*) и 56,3% гемолитических штаммов эшерихий 62,5% грибы (*C. albicans*). Выделены микроорганизмы: микрококки, *Str. iwoffi*, *Str. Bovis*, *Str. faecalis*, *Staph. epidermidis*, *E. Faecalis*. Необходимо уточнить условия хранения молозива для безопасности и сохранения биологической активности в соответствии с требованиями Технического регламента Таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». Методическими указаниями МУК 2.3.2.721–98 «Пищевые продукты и пищевые добавки. Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище».

## Постановка проблемы

Несмотря на то, что проводятся исследования в области изучения биологически активных веществ в пчелином маточном молочке и коровьем молозиве, доступная информация все еще ограничена. Необходимо проводить дальнейшие исследования, чтобы полностью понять и изучить все аспекты этих веществ и их потенциальные преимущества. Анализ биологически активных веществ в пчелином маточном молочке и коровьем молозиве является сложным процессом, требующим специализированных методик и оборудования. Некоторые вещества могут присутствовать в очень малых количествах или требовать сложных методов извлечения и определения, что создает сложности при проведении точных и надежных анализов. В области пчелиного маточного молочка и коровьего молозива отсутствуют универсальные стандарты и протоколы стандартизации. Это создает проблемы в оценке качества продуктов и сравнении результатов различных исследований. Необходимо разработать

и установить стандарты, которые помогут обеспечить надежность и сопоставимость данных.

Тщательно анализируются различные аспекты биологической активности пчелиного маточного молочка, пыльцы и прополиса, а также коровьего молозива. Miguel et al. (2018) исследуют состав и роль пчелиного маточного молочка в поддержании здоровья и иммунной системы. Anand et al. (2019) фокусируются на пчелиной пыльце, её биологически активных компонентах и потенциальном применении в медицине. Fokt et al. (2018) анализируют антимикробные и иммуномодулирующие свойства пчелиного прополиса. Исследование Kelly (2020) посвящено здоровью-поддерживающим свойствам коровьего молозива. Patel et al. (2019) рассматривают коровье молозиво как нутрицевтик, его компоненты и эффекты. Bogdanov et al. (2017) исследуют биологически активные пептиды в пчелином маточном молочке. Szweda et al. (2020) обсуждают различные пчелиные продукты и их полезные свойства для здоровья. Da Silva et al. (2019) проводят обзор терапевтических свойств пчелиной пыльцы. Rusznyák et al. (2018) изучают антиоксидантные, противовоспалительные и иммуномодулирующие свойства пчелиного маточного молочка. Pakkanen et al. (2017) исследуют пользу коровьего молозива для здоровья.

Существуют множественные проблемы технического характера связанных с исследуемым сырьем. Состав пчелиного маточного молочка и коровьего молозива может варьировать в зависимости от различных факторов, таких как порода, питание животных и условия их содержания. Это создает вызовы для стандартизации и обеспечения однородности сырья, что влияет на результаты исследований (Chandrasekar et al., 2023; Sari et al., 2021). Сырье, такое как пчелиное маточное молочко, может быть доступно только в определенные сезоны или в ограниченных количествах. Также оно может быть нестабильным и требовать особых условий хранения для поддержания биологической активности и сохранения качества (Dundar et al., 2022; Sagona et al., 2022). Обеспечение правильного хранения и стабильности сырья представляет сложность при его использовании в исследованиях.

Для преодоления указанных трудностей в исследованиях, связанных с пчелиным маточным молочком и коровьим молозивом, можно указать

разработку специальных методов и условий хранения, которые позволят сохранить биологическую активность и качество сырья в течение длительного времени. Это может включать применение специальных техник замораживания, адсорбции или других методов консервации. Применение дополнительных методов анализа, таких как спектроскопия, хроматография и другие техники, которые позволяют более точно определить состав и биологически активные компоненты сырья. Это поможет оценить степень вариабельности и контролировать качество исследуемого сырья.

Целью данного исследования является разработка технологических решений для создания комплексного БАД — нутрицевтика с использованием маточного молочка пчёл, полученного по разработанной ТОО «КазНИИППП» технологии сбора и адсорбции и коровьего молозива, как нутрицевтических источников активных белков и полиненасыщенных жирных кислот, для восполнения средневзвешенных норм физиологической потребности в этих нутриентах. Для достижения цели были поставлены следующие задачи: (1) провести исследования адсорбированного маточного молочка, по содержанию 10-окси-2-деценной кислоты для оценки методики сбора и стабилизации маточного молочка, разработанной «КазНИИППП»; (2) разработать алгоритмы стандартизации сбора и хранения молозива по основным критериям: микробиологической безопасности, титру иммуноглобулинов (IgG) в молозиве; (3) установить соотношение маточного молочка пчёл и коровьего молозива, обеспечивающее эффективность БАД в соответствии с МУК 2.3.2.721 как источника активных белков и полиненасыщенных жирных кислот.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объекты исследования, теоретическое обоснование и процедура

#### *Коровье молозиво*

Биологически активные компоненты молозива это — прежде всего, вещества белковой природы. Защитные свойства первичного молока обусловлены наличием в нём иммуноглобулинов, лейкоцитов, лактоферрина и лизоцима. Регуляторный эффект связан с присутствием в молозиве пролина,

цитокинов, интерлейкина 10, лимфокинов, антиаггенина. К функциональным компонентам молозива относят ростовые факторы (пролактин, эпителиальный, фибробластный, ростовые факторы и др.), нуклеотиды, пероксидазные ферменты, ингибиторы протеаз. Молозиво первой дойки, или «0 часовое молозиво», является истинным молозивом: оно содержит наибольшее количество белков, ростовых факторов, гормонов и метаболически активных веществ. Доля сывороточных белков в молозиве первого удоя составляет около 70% от массы всех протеинов. Главная роль в создании иммунитета принадлежит глобулиновой фракции белков и иммуноглобулинам (Pithua 2013). IgM в организме человека помогает фагоцитозу — процессу поглощения клетками чужеродных белков, обеспечивая экстренную гуморальную защиту. IgG усиливает иммунный ответ и связывает продукты метаболизма бактерий. IgA предотвращает проникновение возбудителей болезни через слизистую оболочку на местном уровне. Молозиво применяется для эффективного лечения различных инфекций, вызванных различными патогенами. Оно обладает антивирусными, антифунгальными и антибактериальными свойствами. Некоторые из патогенов, с которыми молозиво показало свою эффективность, включают *Escherichia coli*, *Candida albicans*, ротавирусы, *Cryptosporidium*, *Campylobacter*, *Helicobacter pylori*, *Listeria*, *Salmonella*, *Shigellosis* и *Streptococcus* (Davidson 1996). Высокое содержание в истинном молозиве биологически активных белков, в частности иммуноглобулинов выдвигает его в число недорогих источников нутрицевтических средств. Через 6 ч после отела баланс этих веществ начинает меняться, содержание биологически ценных сывороточных белков в молозиве уменьшается практически в 2 раза (Pithua 2013). Для сбора сырья, в объёмах необходимых для промышленной переработки и сохранения его биологической активности, необходима стандартизация процессов хранения. Гигиеническая безопасность сырья обеспечивается контролем молозива при сборе и технологическими приёмами хранения.

#### *Методы, инструменты и процедура*

- (1) Температурная обработка (пастеризация, охлаждение, замораживание);
- (2) внесение консервантов; деконтаминации молозива методами бактериальной ферментации молозива — естественным сквашиванием и с применением микробиальных культур.

Указанные методы регулируют в продуктах: активность воды (aw), кислотность (pH), окислительно-восстановительный потенциал (Eh), содержание сухих веществ. Согласно концепции «барьерной технологии», методы воздействия на сырьё должны быть комплексными (Ляйстнер Л., 1995; Ляйстнер Л., 1998).

Обязательным условием хранения является сочетание микробиологической безопасности и сохранности биологической активности. Наиболее часто, как перспективный способ хранения молозива, отмечается метод замораживания. Главный принцип заключается в том, что период генерации замедляется по мере уменьшения температуры. При температуре между 37,5 °C и 39,5 °C количество колиформных бактерий в молозиве удваивается примерно через 20 минут. При 4 °C время генерации колиформных бактерий составляет более 24 часов. При температуре от –18 °C до –20 °C метаболизм микроорганизмов и действие их эндоферментов прекращаются, что практически полностью предотвращает потери биологически важных веществ в процессе хранения. Однако данные исследователей по длительности хранения в замороженном состоянии, без изменения биологической активности молозива, разнятся и требуют дополнительных исследований по основным критериям: микробиологическим показателям и титру IgG в молозиве.

Оценка микробиологического риска проводится от сырья до конечного продукта. На молозиво нет стандарта идентичности в Республике Казахстан и в странах СНГ, но с учётом назначения конечного продукта, гигиеническую оценку сырья можно проводить по нормируемым требованиям к молоку-сырью, используемому в специализированных продуктах.

#### **Маточное молочко пчёл**

Маточное молочко — полиморфный продукт пчеловодства, обладающий высокой биолого-физиологической активностью. Содержание биологически активных веществ в маточном молочке и его физиологическая активность зависят от условий сбора и хранения. Большое содержание жирных кислот, определяет многие его биологические действия / эффекты и в тоже время делает его крайне неустойчивым к воздействию физических факторов: действию света, окислителей, высоких темпе-

ратур (Noda et al. 2005). При длительном хранении нативного маточного молочка, число высших непредельных жирных кислот, фосфолипидов и глицеридов сокращается, увеличивается содержание дикарбоновых и кетокислот.

Ученые из ТОО «КазНИИППП» разработали эффективную технологию формирования семьи-питательницы для получения маточного молочка в полевых условиях. Они также разработали способ стабилизации биологической активности маточного молочка в течение 2 часов после его изъятия из пчелиной семьи. Этот способ основан на щадящих методах переработки, таких как заморозка и адсорбирование. Процесс адсорбирования позволит нивелировать негативное воздействие биотических и абиотических факторов на биологические активности маточного молочка. Достаточно подробный анализ химического состава маточного молочка приводится во многих работах, хотя до конца состав индивидуальных веществ не выяснен.

Пчелиное маточное молочко имеет следующие особенности химического состава: высокий уровень легкоусвояемых белков, включая альбумины, гамма-глобулины и 22 аминокислоты, в том числе 10 незаменимых аминокислот. Присутствие цинк-содержащего белка с гормоноподобным действием. Наличие свободных жирных кислот. Богатый состав витаминов, включая B1, B2, B3, B6, B12, PP, H, C, D, провитамин A. Присутствие различных минеральных элементов. Наличие следовых количеств ферментов, включая амилазы, инвертазы, глюкозооксидазы, холинэстеразы, аскорбиноксидазы, кислой фосфатазы и протеазы. Наличие гормонов. Обнаружены и нуклеиновые кислоты: рибонуклеиновая кислота (РНК) и дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). Биологически активные вещества маточного молочка определяют его нормализующее влияние на обмен веществ, анаболическое, антиоксидантное, антигипоксическое, иммуностимулирующее действия на организм человека, повышение устойчивости организма к физическим нагрузкам в качестве актопротекторного средства (Фесенко и Арипов, 2007). Липидный состав маточного молочка не имеет аналогов — 80–90% жирных кислот молочка состоят из особых короткоцепочечных (8–10 атомов углерода) гидрокси- и дикарбоновых жирных кислот. Эти кислоты обладают специфическими биологическими свойствами. Они играют существенную роль при разрешении

местной воспалительной реакции у оперированных больных, т. к. являются предшественниками простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов. Другая часть липидов маточного молочка — это фосфолипиды (лецитин, сфингомиелины, кефалин и стеролы). Эти соединения являются основными компонентами плазматических мембран и липопротеинов плазмы, выполняющими структурные и метаболические функции в процессах заживления прооперированных органов и тканей (Орлов Б.Н. и Асафова Н.Н. 2002).

Деценовые кислоты маточного молочка демонстрируют выраженную биологическую активность сложного спектра: антибактериальную, противовоспалительную. Гормоноподобный эффект, который в настоящее время до конца ещё не ясен и активно изучается. Среди всех деценовых и деценовых жирных кислот на первом месте находится 10-оксис-2-деценовая кислота, она является основным компонентом жировой фракции маточного молочка, обладает антибактериальным эффектом (Национальный центр биотехнологической информации, 9 ноября 2016). Выявлена противомикробная активность 9-оксис-2Е-деценовой кислоты (Национальный центр биотехнологической информации, 15 ноября 2016). Исследователями отмечено, что антибактериальные свойства проявляют и другие жирные кислоты: капроновая ( $C_6H_{11}COOH$ ), каприловая ( $C_8H_{15}COOH$ ), каприновая ( $C_{10}H_{19}COOH$ ). Авторы исследования (Townsend et al., 1960; Townsend et al., 1961) достоверно показали наличие ингибирующего эффекта, который оказывало маточное молочко на популяцию опухолевых клеток, ингибирующим действием обладала 10-гидроксис-2-деценовая кислота при низких значениях pH (5,6–4,2). Эти эффекты были показаны на различных животных моделях: мышах, крысах, кроликах и овцах. Объёмы сбора маточного молочка растут, что объясняется спросом на специализированные продукты и совершенствованием технологий сбора и хранения для промышленной переработки. Накопленный опыт применения БАД-натуровитов в питании человека свидетельствуют об эффективности использования соответствующего по химическому составу сырья для получения комплексных БАД. Коровье молозиво и маточное молочко пчел имеют схожие биологической действия/эффекты. Это позволяет рассматривать их как источники активных белков и полиненасыщенных жирных кислот для разработки комплексного нутрицев-

тика. Такой нутрицевтик может быть использован для удовлетворения средневзвешенных норм физиологической потребности в этих питательных веществах. Более того антимикробные свойства основных биологически активных веществ коровьего молозива и маточного молочка позволяют предположить антибактериальную активность комплексного БАД — нутрицевтика.

### Методы, инструменты и процедура

Оценка состава и свойств объектов: влага (ГОСТ 29246–91), белок (Кьельтек), жир (ГОСТ 29247–91), pH (потенциометр), микробиология (МУК 4.2.577–96), иммуноглобулины (плотность, «Лактодинсиметр», «Рефрактометр»), витамины (ГОСТ 30627.6–98, ГОСТ 31483–2012), фосфор (ГОСТ 31584–2012), кальций, магний, калий, натрий (Р 4.1.1672–03), аминокислоты (Hitachi). Для определения 10-гидроксис-2Е-деценовой кислоты использовали систему Shimadzu Prominence LC-20 (Shimadzu, Япония), оборудованную УФ-детектором (SPD-20A) и флуоресцентным детектором (RF-10AXL). Система ВЭЖХ: бинарный насос (LC-20AD), автоматический пробоотборник (SIL-20AC), дегазатор (DGU-20A5), термостат колонок (СТО-20А), ПО LCsolution. Колонка Thermo Hypersil GOLD C18 (150 мм×4 мм, 5 мкм) использовалась для разделения проб.

### Объекты исследований

Коровье молозиво, собранное в первые «0», «6», «12» часов после отёла от здоровых животных, отрицательно реагирующих при исследовании на туберкулез, бруцеллез и лейкоз, третьего отёла, плотностью (1,080–1,045) г/см<sup>3</sup>, pH — от 5,9 до pH 8,3 единиц. Для получения обезжиренного молозива нативное молозиво подогревалось до 40 °С и обезжиривалось методом центрифугирования на центрифуге «Optima L-90K», (ГДР), при 3000 оборотов в минуту, в течение 20 минут. Сыворотку молозива получали методом осаждения казеина в изoeлектрической точке — pH 4.6 и отделением казеиновой фракции методом центрифугирования. Микробиологические показатели исследуемых образцов молозива анализировались в соответствии с требованиями ТР ТС 27. Маточное молочко пчёл, собранное и адсорбированное по разработанной методике исследователей «КазНИИППП».



В работе исследовали маточное молочко пчёл, собранное и адсорбированное по разработанной методике исследователей «КазНИИППП». В разработанной методике стабилизации маточного молочка были использованы выбранные критерии, включающие оценку аминокислотного и витаминного составов (табл. 1). Особое внимание уделялось содержанию 10-гидрокси-2-деценной кислоты в адсорбированном продукте, так как она является основным компонентом жировой фракции маточного молочка и наиболее подвержена воздействию физических факторов. Её наличие определялось как маркер подлинности продукта. Для определения 10-гидрокси-2-деценной кислоты использовали систему Shimadzu Prominence LC-20 (Shimadzu, Япония), оборудованную УФ-детектором (SPD-20A) и флуоресцентным детектором (RF-10AXL). Система ВЭЖХ была оборудована бинарным насосом (LC-20AD), автоматическим пробоотборником (SIL-20AC), дегазатором (DGU-20A5) и термостатом колонок (CTO-20A), управляемым программным обеспечением LCU Solution.

Пробы разделяли на колонке для ВЭЖХ Thermo Hypersil GOLD C18 (150 мм×4 мм, 5 мкм). Для оптимального разделения на данной колонке были подобраны следующие хроматографические условия: Поток подвижной фазы А составлял 0,4 мл/мин и состоял из 100 % метанола. Подвижная фаза В представляла собой смесь метанола, воды (типа Milli-Q) и ортофосфорной кислоты в соотношении 50%/50%/0,1 % (объёмное соотношение). Элюирование проводилось изократически с соотношением фазы А/фазы В равным 20%/80 %. Вводимый объём образца составлял 20 мкл. Температура термостата колонки была установлена на 30 °С. УФ-детектор настраивался на длину волны 215 нм. На данной колонке существующие условия показали 4,6 МПа давления. Время анализа 20 мин.

Стандартные образцы (ChromaDex, #00008415) приготовили в деионизированной воде с концентрацией 1 мг/мл. Рабочие стандартные образцы были приготовлены в концентрациях от 31,75 мкг/мл до 250 мкг/мл.

Для пробоподготовки взвешивали 0,1 г маточного молочка и экстракцию липидов проводили при комнатной температуре, добавляя 3 мл диэтилового эфира/изопропанола 50/1 (об/об). Перемешивая в течение 30 с каждые 10 мин три раза,

а затем центрифугировали при 4000 об/мин в течение 5 мин. Супернатант собирали в стеклянную пробирку и процедуру экстракции проводили дважды. Объединенные органические экстракты сушили над безводным сульфатом натрия и после фильтрации растворитель удаляли в токе аргона. Сухой остаток растворили в 1 мл метанола. Так как подготовленный образец является высококонцентрированным, для количественного определения компонентов было выполнено 100-кратное разбавление со смесью метанол/вода (50/50, об/об). Затем был анализирован ВЭЖХ.

## Анализ данных

Результаты независимых экспериментов представлены как среднее арифметическое значение ± доверительный интервал. Достоверность различий между выборками данных определяли методом доверительных интервалов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Технологические решения для создания нутрицевтика на основе маточного молочка пчёл и коровьего молозива

#### *Результаты исследований условий сбора и хранения маточного молочка*

Полученные данные о содержании 10-гидрокси-2-деценной кислоты в адсорбированном маточном молочке (1,85–2,15 %) подтверждают эффективность разработанного метода хранения маточного молочка. Это также подтверждается результатами исследований аминокислотного и витаминного состава образцов (Таблица 1).

Маточное молочко пчёл, с учётом его антибактериальной активности — микробиологически чистый продукт. Молозиво же может быть контаминировано как экзогенно, так и эндогенно. Оценка микробиологического риска, согласно «барьерной технологии» Ляйстнера проводилась по принципу многофакторности. В ходе исследований, в частности, были рассмотрены вопросы сравнительного изменения бактериальной контаминации коровьего молозива от точек сбора, возраста животного, периода замораживания после сбора и титра IgG

**Таблица 1**

Витаминный и аминокислотный состав маточного молочка

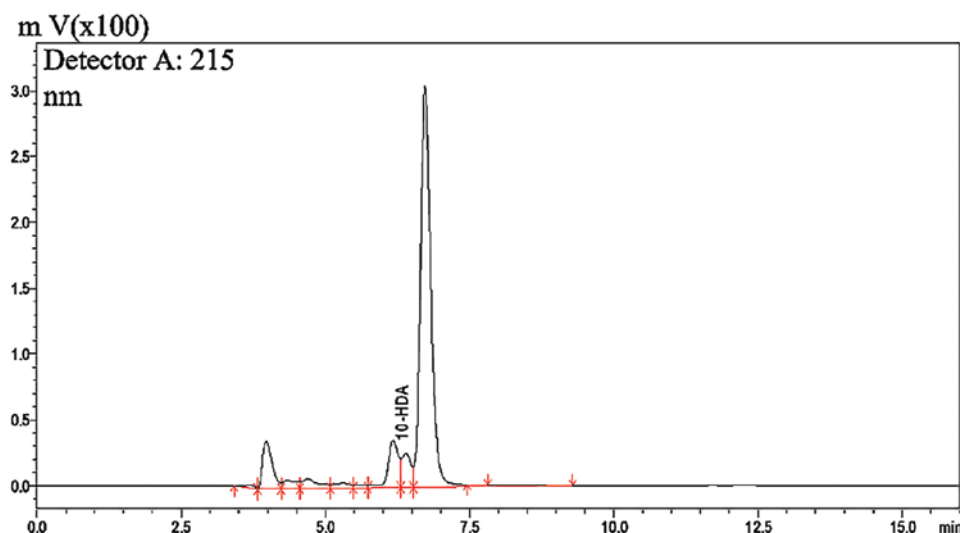
Наименование показателей, единицы измерения	Фактически получено	Наименование показателей, единицы измерения	Фактически получено
<i>Витамины, в 100 г:</i>	<i>мг/100 г</i>	<i>Аминокислотный состав</i>	<i>мг/г</i>
Витамин А, мг	0,73 ± 0,04	Серин	10,55 ± 105,52
Витамин D <sub>3</sub> , мг	0,086 ± 0,004	Гистидин	4,9 ± 48,99
Витамин Е, мкг	63,7 ± 3,2	Глицин	7,91 ± 79,14
Витамин В <sub>1</sub> , мг	0,86 ± 0,04	Аргинин	5,15 ± 51,5
Витамин В <sub>2</sub> , мг	1,43 ± 0,07	Аланин	5,4 ± 54,02
Витамин В <sub>3</sub> (РР), мг	6,34 ± 0,32	Тирозин	4,9 ± 48,99
Витамин В <sub>5</sub> , мг	8,72 ± 0,44	Цистеин	1,63 ± 16,33
Витамин В <sub>6</sub> , мг	3,34 ± 0,17	Валин	10,04 ± 100,50
Витамин В <sub>9</sub> , мкг	46,0 ± 2,3	Изолейцин	4,01 ± 40,20
Витамин С, мг	1,213 ± 0,061	Лейцин	12,18 ± 121,85
		Метионин	3,01 ± 30,15
		Треонин	5,90 ± 59,04
		Триптофан	1,63 ± 16,33
		Фенилаланин	2,76 ± 27,64
		Лизин	6,28 ± 62,81
		Аспаргиновая кислота	9,42 ± 94,22
		Глутаминовая кислота	4,89 ± 49,99

в динамике хранения. Исследования, проведенные по этим направлениям, показали, что уровень бактериальной контаминации асептического молозива от здоровых коров, при равных условиях содержания, зависит в значительной степени от возраста

животного (Back et al 2019; Morin et al., 2021) Суммарное (экзогенное и эндогенное) обсеменение молозива, основной части образцов, превышало 100 000 КОЕ/мл.

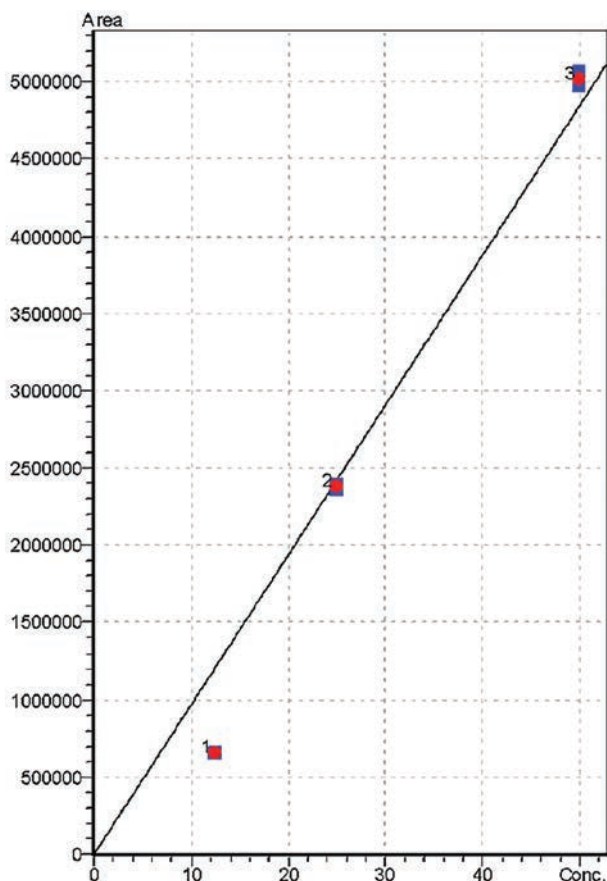
**Рисунок 2**

Хроматограмма высокоэффективной жидкостной хроматографии внутреннего стандарта для 10-HDA



**Рисунок 3**

Стандартная кривая, построенная для различных концентраций 10-HDA в сравнении с соотношением площадей двух пиков для 10-HDA



### Результаты разработки алгоритма стандартизации сбора и хранения коровьего молозива

Разработка условий сбора и хранения молозива проводилась по основным критериям: микробиологической безопасности, титру иммуноглобулинов (IgG) в молозиве. Молозиво может быть конта-

минировано как экзогенно, так и эндогенно. Оценка микробиологического риска, проводилась с учётом значимых факторов, определяющих безопасность сырья и сохранности биологических активностей. В ходе исследований была дана оценка сравнительного изменения бактериальной контаминации молозива от точек сбора, возраста животного, периода замораживания после сбора и титра IgG в динамике хранения. Исследования, проведенные по этим направлениям, показали, что уровень бактериальной контаминации асептического молозива от здоровых коров, при равных условиях содержания, зависит в значительной степени от возраста животного. Суммарное (экзогенное и эндогенное) обсеменение молозива, основной части образцов, превышало 100 000 КОЕ/мл. Образцы истинного молозива, полученные в бактерицидной фазе, от здоровых коров второго и третьего отёлов, не содержали патогенной и условно — патогенной микрофлоры. Средние значения микробиологических показателей нативного и обезжиренного молозива, сыворотки, лиофильно высушенных препаратов представлены в Таблице 2. Плотность нативного молозива составляла от 1,070 до 1,060 г/см<sup>3</sup>, а содержание иммуноглобулинов от 60 до 70 процентов от общего содержания сывороточных белков, средние значения представлены в Таблице 3. Чтобы ограничить контаминацию молозива, хранение молозива проводилось методом замораживания при температуре (–20 °С). В течение 6 месяцев отрицательной динамики изменения микробиологических показателей и концентрации IgG не наблюдалось. Исходя из вышеизложенного, резервирование истинного молозива в бактерицидной фазе является важным фактором для соответствия молозива нормативным гигиеническим требованиям, предъявляемых к сырью. По итогам исследований разработан Стандарт организации («КазНИИПП») на молозиво сырьё для функцио-

**Таблица 2**

Микробиологические показатели истинного молозива в бактерицидной фазе

Наименование образца	КМАФАИМ, КОЕ в 1 г продукта	БГКП, обнаружено в 1 г продукта	Дрожжи, КОЕ в 1 г продукта	Плесени, КОЕ в 1 г продукта	Staphylococcus aureus в 1 г продукта
Бактерицидная фаза нативного молозива	$2,0 \cdot 10^2$	—	$1,0 \cdot 10^1$	$5,0 \cdot 10^1$	—
Обезжиренное молозиво	$1,5 \cdot 10^2$	—	$1,0 \cdot 10^1$	$5,0 \cdot 10^1$	—
Сухое Обезжиренное молозиво	$1,5 \cdot 10^2$	—	$1,0 \cdot 10^1$	$5,0 \cdot 10^1$	—
сыворотка молозива	$1,5 \cdot 10^2$	—	$1,0 \cdot 10^1$	$5,0 \cdot 10^1$	—
Сухая сыворотка молозива	$1,5 \cdot 10^2$	—	$1,0 \cdot 10^1$	$5,0 \cdot 10^1$	—

нальных продуктов — СТО 10044001843–006–2023. Полученные данные определяют алгоритмы сбора, хранения и санации молозива.

Образцы истинного молозива, полученные в бактерицидной фазе от здоровых коров второго и третьего отелов, не содержали патогенной или условно-патогенной микрофлоры. В Таблице 2 приведены средние значения микробиологических показателей для нативного молозива, обезжирен-

ного молозива, сыворотки и лиофильно высушенных препаратов. Плотность нативного молозива составляла от 1,070 до 1,060 г/см<sup>3</sup>, а содержание иммуноглобулинов от 60 до 70 процентов от общего содержания сывороточных белков, средние значения представлены в Таблице 3. Чтобы ограничить контаминацию молозива, хранение молозива проводилось методом замораживания при температуре (–20 °C). В течение 0,5 года, отрицательной динамики изменения микробиологических показателей и концентрации IgG не наблюдалось. Исходя из вышеизложенного, хранение истинного молозива в бактерицидной фазе является важным фактором для соответствия молозива нормативным гигиеническим требованиям предъявляемых к сырью. Полученные данные определяют алгоритмы сбора, хранения и санации молозива.

Результаты экспериментальных исследований сырья по основным критериям: микробиологической безопасности и титру содержания иммуноглобулинов (IgG) в молозиве, содержанию деценовых кислот в маточном молочке, послужили основанием для разработки рецептурных композиций комплексной БАД.

### Разработка рецептурных композиций комплексной биологически активной добавки

Соотношение функциональных компонентов (сухого лиофилизированного адсорбированного маточного молочка и сухого лиофилизированного обезжиренного молозива) регулировалось в соответствии с требованиями МУК 2.3.2.721 и содержанием биологических активностей в сырье.

Оценка функциональной эффективности, разрабатываемого БАД в восполнении дефицита эссенциальных пищевых веществ: белка, эссенциальных жирных кислот основывается на:

- (1) Законодательных, средневзвешенных нормах физиологической потребности в пищевых веществах и энергии (МУК 2.3.2.721):
  - белок — 12 % по калорийности или 75 г;
  - эссенциальные жирные кислоты — 4 % по калорийности или 11 г в сутки.
- (2) Содержании биологических активностей в сырье и его физико-химических показателях.

**Таблица 3**

Физико-химические показатели истинного молозива в бактерицидной фазе

Наименование показателя	Фактические значения (неопределенность)
Массовая доля белка, %	14,96(±0,06)
Содержание общего азота, %	2,35(±0,04)
Содержание небелкового азота, %	0,045(±0,003)
Содержание «истинного белка», %	14,71(±0,06)
Содержание казеиновых белков, %	1,20(±0,35)
Содержание сывороточных белков, %	13,49(±0,20)
в том числе:	
содержание α-лактоальбумина, %	
содержание β-лактоглобулина, %	
содержание лактоферрина, %	6,30(±20 % относит)
Содержание аминокислот, мг/100 г (±20 % относит)	
Аспарагиновая	1325,8
Глутаминовая	2580,0
Треонин	1062,1
Валин	1230,5
Метионин	370,9
Лейцин	1586,0
Изолейцин	998,8
Фенилаланин	882,0
Лизин	1616,0
Гистидин	532,9
Тирозин	685,0
Триптофан	262,5
Общее количество незаменимых аминокислот, мг/100 г	8008,8
Тирозин	685,0
Триптофан	262,5
Общее количество незаменимых аминокислот, мг/100 г	8008,8



Сухое адсорбированное маточное молочко (ГОСТ 31767–2012):

- массовая доля влаги, %, не более 1,8;
- массовая доля деценовых кислот, %, не менее 0,5 (биологически активного компонента);
- массовая доля сырого протеина, %, не менее 31,0 (биологически активного компонента);
- антимикробная активность (бактериостатичность против стафилококка *Staphylococcus aureus* 209 P), мг/см<sup>3</sup>, не более — 14.

Сухое обезжиренное молозиво:

- массовая доля влаги, %, не более 6,0;
- массовая доля белка, %, в пределах 65,0;
- массовая доля иммуноглобулинов, %, не менее 20,0.

Сублимированные компоненты подвергается инкапсуляции с использованием метода адсорбции в условиях, обеспечивающих адсорбцию биологически активных компонентов на поверхности носителя. Этот процесс осуществляется с использованием щадящих методов, чтобы избежать потери активности, а также, позволяет создать стабильные капсулы. Соотношение промежуточного сырья (сухое адсорбированное маточное молочко и сухое обезжиренное молозиво) 50/50 и 70/30 соответственно обеспечат нормативные требования для БАД — не менее 2 % декларируемых нутриентов от норм физиологической потребности в пищевых веществах и энергии (МУК 2.3.2.721) при рекомендуемой дозе приема (4 капсулы по 500 мг в день).

Исходя из аналитических и экспериментальных данных, определены функциональные свойства комплексного БАД:

- (1) восполнение дефицита эссенциальных жирных кислот и биологически активных белков;
- (2) антимикробная активность.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основании экспериментально-аналитических исследований сырья разработаны основные требования к технологическим процессам получения промежуточного сырья с высоким титром 10-гидрокси-2-деценовой кислоты в маточном молочке пчёл, иммуноглобулинов (IgG) в молозиве и обеспечения его микробиологической безопасности. Метод сбора и резервирования коровьего молозива

основывается на сборе и резервировании истинного молозива в бактерицидной фазе для обеспечения гигиенической безопасности и сохранения титра иммуноглобулинов (IgG) в процессе замораживания в течение 0,5 года. На коровье молозиво нет стандарта идентичности, поэтому требования к молозиву сырью установлены законодательными нормативными требованиями и собственными исследованиями (СТО 100440016493–06-2023, разработанный ТОО «КазНИИППП») Метод сбора и резервирования маточном молочке пчёл базируется на эффективной технологии формирования семьи-воспитательницы и стабилизации биологической активности маточного молочка с использованием щадящих методов замораживания и адсорбции. Основные решения метода заключаются в совмещении отбора маточного молочка из мисочек (маточников). с процессом адсорбции. Процесс извлечения маточного молочка и адсорбции длится в совокупности не более 1,5 часа. В качестве адсорбента применяется смесь лактозы с глюкозой в соотношении  $98 \pm 1\%$  к  $2 \pm 1\%$  соответственно. Сравнительный анализ биологических активностей собранного маточного молочка, адсорбированного до и после резервирования, показал, что продукт при температуре минус 36 °C не теряет свою биологическую активность в течение 10 месяцев. Эти методы позволяют обеспечить регулируемый процесс создания функциональных для БАД композиций маточного молочка и коровьего молозива (Li et al, 2022; Spanidi et al, 2022; Ghadimi-Garjan et al, 2023).

Разработанные алгоритмы подготовки и переработки молозива, маточного молочка, позволяют максимально сохранить титр биологических активностей, обеспечит гигиеническую безопасность сырья, возможность его переработки в промышленных масштабах. Изменение условий сбора и резервирования сырья потребует дополнительных исследований по деконтаминации коровьего молозива, изучению комплексных свойств биологически активных композиций, так как баланс белков молозива, в частности иммуноглобулинов, содержание жирных кислот маточного молочка, источника многих биологических активностей, меняется в течение времени и под воздействием физических факторов. Научный результат в виде технологических решений подготовки и получения промежуточного сырья с высоким титром 10-гидрокси-2-деценовой кислоты в маточном

молочке пчёл, иммуноглобулинов (IgG) в молозиве, позволяет создать БАД, не имеющие аналогов, по композиции функциональных ингредиентов и интересен с практической точки зрения. Таким образом, прикладной аспект использования полученного научного результата заключается в совершенствовании методов и подходов переработки сырья, определении его функционального назначения, получении социально значимых продуктов. Это создает предпосылки для расширения масштабов внедрения разработанных технологических решений и разработки промышленных схем обработки сырья с улучшением функциональных узлов оборудования. Однако, исследуемое сырьё, в соответствии с аналитическими исследованиями (Honda et al, 2015; Khazaei et al, 2018), обладает широким спектром биологически активностей. Изучение вопроса показало возможность подобрать не только оптимальные соотношения биологически активных компонентов молозива и маточного молочка для восполнения дефицита эссенциальных пищевых веществ, но и расширить спектр функциональных возможностей сырья, в частности, за счёт антимикробной активности, что требует дополнительных экспериментальных исследований.

Однако, существуют определенные ограничения и потенциальные направления для дальнейших исследований. В частности, необходимо провести дополнительные эксперименты для оценки антимикробной активности разработанной функциональной композиции, а также изучить влияние различных физических факторов на стабильность и биологические активности компонентов композиции. Изменения в белковом составе молозива и жирных кислотах маточного молочка со временем и под воздействием физических факторов требуют дополнительного изучения.

Важно также учитывать, что разработанные методы и подходы могут встретить определенные трудности при масштабировании для промышленного применения. Необходимо разработать оптимальные методы производства, которые будут способствовать сохранению биологически активных свойств продукта в условиях массового производства.

## ВЫВОДЫ

В ходе исследования были разработаны алгоритмы подготовки и переработки маточного молочка пчёл и коровьего молозива. Эти алгоритмы позволяют максимально сохранить титр биологических активностей, обеспечив гигиеническую безопасность сырья и возможность его промышленной переработки. Полученные результаты включают оценку эффективности комплексной биологически активной добавки (БАД) в соответствии с нормативными требованиями к БАД-нугрицевнику.

Были установлены соотношения между пчелиным маточным молочком и коровьим молозивом, что поддерживает эффективность комплексной БАД. Разработанный метод основан на сборе и резервировании истинного молозива в бактерицидной фазе, обеспечивая гигиеническую безопасность и сохранение биологической активности в процессе замораживания.

Особый акцент сделан на эффективной технологии формирования семьи-воспитательницы и стабилизации биологической активности. Этот метод позволяет создавать регулируемые функциональные композиции из маточного молочка и коровьего молозива.

Однако результаты исследования также выявили несколько важных аспектов для дальнейших исследований. Требуются дополнительные исследования в области деконтаминации коровьего молозива и изучения комплексных свойств биологически активных композиций. Баланс белков молозива и содержание жирных кислот в маточном молочке подвержены изменениям со временем, и это требует дополнительного изучения.

Разработанные алгоритмы позволяют определить возможность промышленной переработки сырья и улучшения методов создания социально значимых продуктов.

Ограничениями исследования являются необходимость дополнительных исследований по антимикробной активности разработанной композиции, а также изучение влияния физических факторов на стабильность и биологические активности компонентов. Кроме того, масштабирование разрабо-

танных методов для промышленного применения потребует дальнейших исследований.

Таким образом, исследование вносит значительный вклад в разработку технологий для создания функциональных композиций на основе маточного молочка и коровьего молозива, обладающих высокой биологической активностью.

## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Умираниева Лазат Бекеновна:** концептуализация; методология; создание черновика рукописи; получение финансирования, создание рукописи и ее редактирование.

**Танькова Нина Леонидовна:** концептуализация; верификация данных; руководство исследованием.

**Амангельдин Марат Саматович:** проведение исследования; создание рукописи и её редактирование; визуализация.

**Ибраихан Акниет Толегенкызы:** верификация данных; формальный анализ; проведение исследования.

**Макеева Раушан Кыдырхановна:** проведение исследования; администрирование данных; создание черновика рукописи.

**Бармак Сабырхан Мухитұлы:** проведение исследования; администрирование данных; создание черновика рукописи.

## БЛАГОДАРНОСТЬ

Коллектив авторов выражает искреннюю благодарность всем участникам данного научного проекта за помощь и содействие в проведении исследований. Также выражаем благодарность руководству и ученым Казахского НИИ перерабатывающей и пищевой промышленности за помощь и поддержку.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

- Белов, А.Е., & Исмагилова, А.Ф. (2012). Эффективность применения 9-оксо-2Е-деценовой кислоты для лечения мастита у коров и получения молока высокого санитарного качества. *Вестник Башкирского государственного аграрного университета*, (2), 20–21.
- Belov, A.E., & Ismagilova, A.F. (2012). The effectiveness of using 9-oxo-2E-decenoic acid for the treatment of mastitis in cows and obtaining high sanitary quality milk. *Bulletin of the Bashkir State Agrarian University*, (2), 20–21. (In Russ.)
- Ляйтнер, Л. (1998). Значение барьерной технологии для сохранения качества пищевых продуктов. *Мясная индустрия*, (2), 23–25.
- Lyaistner, L. (1998). The importance of barrier technology for preserving the quality of food products. *Meat Industry*, (2), 23–25. (In Russ.)
- Ляйтнер, Л. (1998). Значение барьерной технологии для сохранения качества пищевых продуктов. *Мясная индустрия*, (3), 31–32.
- Lyaistner, L. (1998). The importance of barrier technology for preserving the quality of food products. *Meat Industry*, (3), 31–32. (In Russ.)
- Орлов, Б.Н., & Асафова, Н.Н. (2002). Эволюционно-физиологические подходы к анализу механизмов действия биологически активных веществ пчелиной семьи. В *Апитерапия сегодня* (с. 16–18). Рыбное: НИИП.
- Orlov, B.N., & Asafova, N.N. (2002). Evolutionary-physiological approaches to the analysis of mechanisms of action of biologically active substances of the bee family. In *Apitherapy Today* (pp. 16–18). Rybnoe: NIIP. (In Russ.)
- Позняковский, В. М., Чугунова, О. В., & Тамова, М. Ю. (2023). *Пищевые ингредиенты и биологически активные добавки*. НИЦ ИНФРА-М.
- Poznyakovsky, V. M., Chugunova, O. V., & Tamova, M. Y. (2023). *Food ingredients and biologically active supplements*. NIC INFRA-M. (In Russ.)
- Тутельян, В.А. (2001). Биологически активные добавки к пище в профилактическом и лечебном питании. Эволюция взглядов и подходов. V *Международный симпозиум по БАД к пище и проблемам здоровья семьи* (с. 3–5). Красноярск: Арт лайф.
- Tutelyan, V.A. (2001). Dietary supplements in preventive and therapeutic nutrition. The evolution of views and approaches. V *International Symposium on Dietary Supplements and Family Health Issues* (pp. 3–5). Krasnoyarsk: Art Life. (In Russ.)
- Тутельян, В.А. (2004). Питание и здоровье. *Пищевая промышленность*, 5(7).
- Tutelyan, V.A. (2004). Nutrition and health. *Food Industry*, 5(7). (In Russ.)
- Фесенко, Л.М., & Арипов, О.А. (2007). Использование флавоноидов для коррекции нарушения функции печени при экспериментальном хроническом токсическом гепатите. *Юбилейная Российская научная конференция, посвященная 175-летию со дня рождения С.П.Боткина* (с. 335). Санкт-Петербург: РАМН.

- Fesenko, L.M., & Aripov, O.A. (2007). The use of flavonoids to correct liver function disorder in experimental chronic toxic hepatitis. *Anniversary Russian Scientific Conference dedicated to the 175th anniversary of the birth of S.P. Botkin* (p. 335). Saint Petersburg: RAMS.
- Alu'datt, M. H., Rababah, T., Obaidat, M., Ereifej, K., Alhamad, M., Mhaidat, N. M., J. Andrade, A. Johargy, Ayadi, W. (2015). Probiotics in milk as functional food: Characterization and nutraceutical properties of extracted phenolics and peptides from fermented skimmed milk inoculated with royal jelly. *Journal of Food Safety*. <https://doi.org/10.1111/jfs.12201>
- Anand, A., Sharma, S., Kumar, R., & Gill, B. K. (2019). Therapeutic uses of bee pollen: A review. *Journal of Medicinal Food*, 22(5), 412–424. <https://doi.org/10.1089/jmf.2018.0144>
- Awuchi, G. G., Igwe, V. S., Amagwula, O. I., & Echeta, C. K. (2020). Health benefits of micronutrients (vitamins and minerals) and their associated deficiency diseases: A systematic review. *International Journal of Food Science*, 3(1), 1–32. <https://doi.org/10.47604/ijf.1024>
- Back, P. J., Hickson, R., Sneddon, N. W., Coleman, L. W., Laven, R. A. (2019). Association of bacterial contamination of colostrum with passive immunity and growth rates in dairy heifer calves. *New Zealand Journal of Animal Science and Production*, 79, 149–152.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2017). Biological and therapeutic properties of bee pollen: A review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 69(3), 225–235. <https://doi.org/10.1111/jphp.12645>
- Chandrasekar, S., Rajagopalan, S. M., Ayyaswami, S. (2023). Standardization of mass queen rearing techniques in Indian Honey Bees. *Madras Agricultural Journal*, September(7–9), 2023. <https://doi.org/10.29321/MAJ.10.200007>
- da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2019). Health benefits of bee products and their constituents: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(34), 7831–7843. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b02679>
- Das, J. K., Salam, R. A., Mahmood, S., Moin, A., Kumar, R., Mukhtar, K., Z. Lassi, Bhutta, Z. (2019). Food fortification with multiple micronutrients: Impact on health outcomes in general population. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011400.pub2>
- Davidson, G. P. (1996). Passive protection against diarrheal disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 23, 207–212.
- Dubtsova, G., Lomakin, A., Kusova, I., Bulannikova, E., Bystrov, D. (2022). Biologically active substances from powdered barberry and viburnum. *Food Processing*. <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-779-783>
- Dundar, A. N., Cinar, A., Altuntas, S., Ulubayram, N., Taner, G., Dagdelen, A. F., Demircan, H., & Oral, R. A. (2022). The role of microencapsulation in maintaining biological activity of royal jelly: comparison with biological activity and bioaccessibility of microencapsulated, fresh and lyophilized forms during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11905>
- Fokt, H. F., Pereira, A., Ferreira, A., & Rijo, P. (2018). Antimicrobial and immunomodulatory properties of bee propolis: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.008>
- Ivanova, T., Popova, T., & Balkanska, R. (2022). Effect of the Dietary Royal Jelly Supplementation in Ewes of Bulgarian Dairy Synthetic Population on the Body Weight of the Lambs and the Milk Composition. *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*, 6(4), 417–425. <https://doi.org/10.29329/ijiaar.2022.506.12>
- Janota-Bassalik, L., Ryniewicz, Z., Pietraszek, A., Zajac, M., Albrecht, A., Pietrowska, E., & Zalewska, M. (1975). Pathogenic microflora in naturally and experimentally infected mammary glands of cows. *Vet Med Nauki*, 12(3), 77–80.
- Kelly, G. S. (2020). Health-promoting effects of colostrum: A review. *Journal of the American College of Nutrition*, 39(8), 732–751. <https://doi.org/10.1080/07315724.2020.1712247>
- Luo, Y., Kong, Z., Yang, B., He, F., Huan, C., Li, J., & Yi, K. (2023). Relationship between microflora changes and mammary lipid metabolism in dairy cows with mastitis. *Animals*, 13(17), 2773. <https://doi.org/10.3390/ani13172773>
- Miguel, M. G., Nunes, S., & Dandlen, S. A. (2018). Bioactive components of royal jelly: Review. *Journal of Food Science*, 83(3), 757–764. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14060>
- Morin, M. P., Dubuc, J., Freycon, P., & Buczinski, S. (2021). Diagnostic accuracy of the Petrifilm culture system for identifying colostrum with excessive bacterial contamination in Quebec dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4923–4928. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19474>
- Noda, N., Umebayashi, K., Nakatani, T., Miyahara, K., & Ishiyama, K. (2005). Isolation and characterization of some hydroxy fatty and phosphoric acid esters of 10-hydroxy-2-decenoic acid from the royal jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Lipids*, 40(8), 833–838. <https://doi.org/10.1007/s11745-005-1445-6>
- Pakkanen, R., Aalto, J., & Virtanen, E. (2017). Colostrum and its benefits: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(6), 1592–1604. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8227>
- Patel, R. D., Mehta, B. M., Goyal, R. K., Patel, P. R., & Pandya, H. V. (2019). Bovine colostrum: An emerging nutraceutical. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 9(2), 32–38. [https://doi.org/10.4103/ijnpnd.ijnpnd\\_36\\_19](https://doi.org/10.4103/ijnpnd.ijnpnd_36_19)
- Pithua, P., Aly, S. S., Haines, D. M., et al. (2013). Efficacy of feeding a lacteal-derived colostrum replacer or pooled maternal colostrum with a low IgG concentration for prevention of failure of passive transfer in dairy calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243(2), 277–282. <https://doi.org/10.2460/javma.243.2.277>
- Rusznayák, Á., Sujbert, K., Bakonyi, T., & Szöke, É. (2018). Biological activities of royal jelly: Review. *Acta Veterinaria Hungarica*, 66(4), 535–544. <https://doi.org/10.1556/004.2018.050>
- Sagona, S., Coppola, F., Giannaccini, G., Betti, L., Palego, L., Tafi, E., Casini, L., Piana, L., Dall'Olio, R., Felicioli, A. (2022).



- Impact of different storage temperature on the enzymatic activity of *Apis mellifera* royal jelly. *Foods*, 11(20), 3165. <https://doi.org/10.3390/foods11203165>
- Sari, E., Mahira, K. F., Patel, D., Chua, L. S., Pratami, D., & Sahlan, M. (2021). Metabolome analysis and chemical profiling of Indonesian royal jellies as the raw material for cosmetic and bio-supplement products. *Heliyon*, 7(5), E06912. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06912>
- Sokolova, O.V., Bezborodova, N.A., Lysova, Y.Y., & Pechura, E.V. (2021). Characteristics of species composition, biochemical and pathogenic nature of the microbiota of mammary gland and the reproductive tract in dairy cows. *E3S Web of Conferences*, 282, 03017. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202128203017>
- Szweda, P., Gucwa, K., Kurpios-Piec, D., & Pawlikowska, M. (2020). Bioactive peptides from bee products for health benefits: A review. *Nutrients*, 12(7), 1840. <https://doi.org/10.3390/nu12071840>
- Townsend, G. F., Morgan, J. F., Tolnai, S., Hazlett, B., Morton, H. J., & Shuel, R. W. (1960). Studies on the in vitro antitumor activity of fatty acids I. 10-hydroxy-2-decenoic acid from royal jelly. *Cancer Research*, 20(4), 503–510.
- Townsend, G. F., William, H. B., Felauer, E. E., & Barbara, H. (1961). Studies on the in vitro antitumor activity of fatty acids: IV. The esters of acids closely related to 10-hydroxy-2-decenoic acid from royal jelly against transplantable mouse leukemia. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 39(11), 1765–1770.
- Li, L., Wang, P., Xu, Y., Wu, X., & Liu, X. (2022). Effect of Trehalose on the Physicochemical Properties of Freeze-Dried Powder of Royal Jelly of Northeastern Black Bee. *Coatings*, 12(2), 173. <https://doi.org/10.3390/coatings12020173>
- Spanidi, E., Athanasopoulou, S., Liakopoulou, A., Chaidou, A., Hatziantoniou, S., & Gardikis, K. (2022). Royal Jelly Components Encapsulation in a Controlled Release System—Skin Functionality, and Biochemical Activity for Skin Applications. *Pharmaceuticals*, 15(8), 907. <https://doi.org/10.3390/ph15080907>
- Ghadimi-Garjan, R., Javadi, A., Jafarizadeh-Malmiri, H., Anarjan, N., & Mirzaei, H. (2023). Lyophilized royal jelly preparation in nanoscale and evaluation of its physicochemical properties and bactericidal activity. *Food Science and Nutrition*, 11(6), 3404–3413.
- Honda, Y., Araki, Y., Hata, T., Ichihara, K., Ito, M., Tanaka, M., & Honda, S. (2015). 10-Hydroxy-2-decenoic Acid, the Major Lipid Component of Royal Jelly, Extends the Lifespan of *Caenorhabditis elegans* through Dietary Restriction and Target of Rapamycin Signaling. *Journal of Aging Research*, Volume 2015, Article ID 425261. <https://doi.org/10.1155/2015/425261>
- Khazaei, M., Ansarian, A., & Ghanbari, E. (2018). New Findings on Biological Actions and Clinical Applications of Royal Jelly: A Review. *Journal of Dietary Supplements*, 15(5), 757–775. <https://doi.org/10.1080/19390211.2017.1363843>

УДК 551.321.1:66.065.5:537.63:544.032.  
53:543.456:(639.31+664.8.037+577.3)

# Экспериментальная оценка значимости влияния переменного низкочастотного магнитного поля на образование кристаллов льда применительно к биологическим субстанциям

Аграрный научный центр «Донской»  
(«АНЦ «Донской»), г. Зерноград,  
Российская Федерация

## КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Максименко Владимир Андреевич

E-mail: [elektro\\_skniimesh.rashn@mail.ru](mailto:elektro_skniimesh.rashn@mail.ru)

## ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования  
доступны по запросу  
у корреспондирующего автора.

## ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Максименко, В.А. (2023). Экспериментальная оценка значимости влияния переменного низкочастотного магнитного поля на образование кристаллов льда применительно к биологическим субстанциям. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 61–74. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.479>

ПОСТУПИЛА: 04.03.2023

ПРИНЯТА: 15.12.2023

ОПУБЛИКОВАНА: 30.12.2023

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

автор сообщает об отсутствии  
конфликта интересов.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ:

Исследование выполнено в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы), утвержденной распоряжением Правительства РФ №3684-р от 31.12.2020 г. по шифру госзадания: 0505-2022-0007 «Разработать интегрированный подход и новые принципы, процессы и технические средства в системе переработки зерновых культур».

В. А. Максименко

## АННОТАЦИЯ

**Введение:** При замораживании биологических образцов, особенно животных, часто наблюдаются потери их жизнеспособности и функциональных характеристик. Основной причиной повреждений клеток является формирование ледяных кристаллов, растущих в направлении острых углов при замерзании воды. Предполагается, что воздействие на дипольный момент молекул воды может ослабить межмолекулярные связи, способствуя уменьшению размеров структур, которые служат ядрами будущих кристаллов льда, и увеличивая их количество в замороженной воде, что влияет на размеры острых углов кристаллов. В качестве метода воздействия рассматривается использование переменного магнитного поля, эффективность которого в данном контексте ещё не была полностью изучена.

**Цель:** путем воздействия на воду до и во время замораживания выявить наличие влияния низкочастотного магнитного поля на величину и конфигурацию образовавшихся кристаллов и кристаллических соединений льда.

**Материалы и методы:** В рамках исследования была использована дистиллированная вода, исключая присутствие внешних примесей для обеспечения чистоты эксперимента. Основным методом оценки эффекта магнитного поля на процесс кристаллизации воды стало сравнение микрофотографий образцов льда, полученных в проходящем поляризованном свете. Отбор критериев для анализа изображений основывался на характеристиках, связанных с размерами кристаллов. На основании этих признаков опытные образцы классифицировались как подвергшиеся воздействию, слабо реагирующие или не реагирующие на воздействие. Микроснимки льда делались при помощи микроскопа с видеокамерой и простейшим поляризатором непосредственно в морозильной камере при температуре  $-7,2^{\circ}\text{C}$ . Использовалось переменное магнитное поле с периодическими импульсами длительностью 1 секунда и паузой 50 секунд, индукцией 50 мТл и частотой тока 600 Гц. Устройство для удержания воды и замораживания льда представляло собой проволочную рамку диаметром 3 мм. В ходе экспериментов условия замораживания для контрольного и опытного образцов (за исключением магнитного воздействия) были одинаковыми.

**Результаты:** в проделанных опытах (38 микроснимков) положительность физического воздействия переменного магнитного поля проявилась в 70% опытов, слабо проявилась в 20% и не проявилась в 10%. На основании этого методика выявления влияния можно считать приемлемой для использования, а воздействие переменного магнитного поля способствующим уменьшению кристаллов и заострений на них.

**Заключение:** полученный результат позволяет считать необходимым продолжение дальнейших исследований физических воздействий на кристаллизацию воды с приближением к практическому использованию замораживания в технологиях селекционных работ и при хранении пищевого сырья и продуктов.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

замораживание; биологические объекты; вода; структурированность; лёд; воздействие; магнитное поле; микроснимки



# Experimental Evaluation of the Significance of the Influence of Variable Low-Frequency Magnetic Field on Ice Crystal Formation in Relation to Biological Substances

Agrarian Scientific Center "Donskoy"  
("ANC "Donskoy"), Zernograd, Russian  
Federation

## CORRESPONDENCE:

**Vladimir A. Maksimenko**

E-mail: [elektro\\_skniimesh.rashn@mail.ru](mailto:elektro_skniimesh.rashn@mail.ru)

## DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

## FOR CITATIONS:

Maksimenko, V.A. (2023). Experimental evaluation of the significance of the influence of variable low-frequency magnetic field on ice crystal formation in relation to biological substances. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 61–74. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.479>

**RECEIVED:** 04.03.2023

**ACCEPTED:** 15.12.2023

**PUBLISHED:** 30.12.2023

## DECLARATION OF COMPETING

**INTEREST:** none declared.

## FUNDING:

The research was conducted within the framework of the Program for Fundamental Scientific Research in the Russian Federation for the long-term period (2021–2030), approved by the decree of the Government of the Russian Federation No. 3684-r dated December 31, 2020, under the state assignment code: 0505-2022-0007 "To develop an integrated approach and new principles, processes, and technical means in the system of grain crops processing."



Vladimir A. Maksimenko

## ABSTRACT

**Introduction:** During the freezing of biological samples, especially animals, there are often losses in their viability and functional characteristics. The main cause of cell damage is the formation of ice crystals growing in the direction of sharp angles when water freezes. It is assumed that influencing the dipole moment of water molecules can weaken intermolecular bonds, helping to reduce the sizes of structures that serve as nuclei for future ice crystals, and increasing their number in frozen water, which affects the sizes of sharp angles of crystals. As a method of influence, the use of an alternating magnetic field is considered, the effectiveness of which in this context has not yet been fully studied.

**Purpose:** To determine the influence of low-frequency magnetic fields on the size and configuration of formed crystals and crystalline compounds of ice by affecting water before and during freezing.

**Materials and Methods:** Distilled water was used as a material, excluding the presence of external impurities to ensure the purity of the experiment. The main method of assessing the effect of a magnetic field on the process of water crystallization was a comparison of microphotographs of ice samples obtained in transmitted polarized light. The selection of criteria for image analysis was based on characteristics related to the sizes of crystals. Based on these features, experimental samples were classified as affected, weakly responsive, or non-responsive to influence. Micrographs of ice were taken using a microscope with a video camera and a simple polarizer directly in the freezer at a temperature of  $-7.2^{\circ}\text{C}$ . A variable magnetic field with periodic pulses of 1 second duration and a pause of 50 seconds, an induction of 50 mT, and a current frequency of 600 Hz was used. The device for holding water and freezing ice consisted of a wire frame with a diameter of 3 mm. During the experiments, freezing conditions for control and experimental samples (except for magnetic influence) were identical.

**Results:** In the conducted experiments (38 microphotographs), the positivity of the physical effect of the variable magnetic field was manifested in 70% of experiments, weakly manifested in 20%, and not manifested in 10%. Based on this, the method for detecting influence can be considered acceptable for use, and the effect of a variable magnetic field contributes to reducing crystals and sharpness on them.

**Conclusion:** The obtained result suggests the necessity of continuing further research on physical effects on water crystallization, approaching practical application in freezing technologies in selective works and storage of food raw materials and products.

## KEYWORDS

freezing; biological objects; water; structuring; ice; influence; magnetic field; microphotographs

## ВВЕДЕНИЕ

В основе биохимических процессов подавляющего числа живых существ нашей планеты лежит использование воды. Человечество как часть этого числа, но обладающая повышенным интеллектом для своего выживания пришло к технологиям создания запасов и методам их хранения. Одним из лучших его способов является охлаждение, которое широко применимо и достаточно глубоко исследовано не только для пищевых запасов, но и биологических объектов используемых в научных технологиях (Головкин и др. 1987; Далецкая & Полякова, 1994; Красильникова, 2021; Сторожева, 2006; Чебанов и др. 2004; Шац, 2019).

Биологические объекты, подлежащие сохранению при низких температурах можно подразделить по содержанию влаги в них на несколько групп. Первые в этом ряду растительные объекты — зрелые семена (в технологии генетических банков хранения семян), просушенные до критической влажности хранения (3–7%), содержание воды в которых настолько мало, что она не соединяется в объёмы, в которых возможна структуризация, её укрупнение и образование льда (Далецкая, & Полякова, 1994; Шац, 2019; Chetverikova, 2008). Последние — это, преимущественно, объекты животного происхождения с большим (70% и более) содержанием в них влаги. Для этих объектов, как правило, весьма проблематично обеспечить сохранность качества при хранении и также эта проблема остается и для низкотемпературного, криогенного хранения (Дибирасулаев, Белозеров, Дибирасулаев, & Орловский, 2016). Особенно остро она обозначилась в ихтиологии и аквакультуре (Андреев, Садикова, Ивлиева, & Борода, 2017).

Разведение ценных пород рыбы в естественных природных условиях с использованием естественного способа размножения с экономических позиций весьма низкопродуктивно. Основным фактором этой непродуктивности является гибель от внешних воздействий оплодотворенной и неоплодотворенной икры, а так же рыбной молоди на ранних стадиях развития от хищников и инфекций (Чебанов, Галич, & Чмырь, 2004). Использование способов искусственного оплодотворения икры и последующего начального выращивания молоди в оборудованных специальных водоемах значительно повышают продуктивность маточного поголовья.

Разработанные и применяемые технологии искусственного размножения рыбы предполагают использование свежих (до 2–3 часов после извлечения) икры и молок. Такое требование затрудняет совмещение во времени добычу этих компонентов и производства оплодотворения (Пономарева и др., 2022; Чебанов и др., 2004). При проведении селекционных работ по улучшению имеющихся пород рыб и выведению новых такое совмещение во времени приобретает особую остроту и становится возможным только в том случае если один из компонентов (молоки) заранее заготовлен и находится в состоянии хранения с возможностью запланированного, достаточно быстрого перевода в биологически активное состояние (Белая и др., 2018; Красильникова, 2019). Одним из лучших и наиболее широко используемых способов хранения таких биологических объектов является глубокая заморозка (в жидком азоте, иногда переохлажденном) (Красильникова, 2019; Пономарева, Неваленный, Белая, & Красильникова, 2017; Firsova, Ponomareva, Krasilnikova, & Belaya, 2021). Однако, как считают использующие этот метод селекционеры-рыбоводы, процент биоматериала сохраняющего свои репродуктивные качества при этом недостаточен (Красильникова, 2021; Коляда и др. 2022; Пономарева и др. 2017; Чебанов и др. 2004).

Исследования, посвященные использованию низких температур для хранения биологических объектов обширны и по охвату и во времени. В них выявлены основные причины и механизмы гибели живых организмов в целом и их отдельных клеток в процессе охлаждения и глубокого замораживания (Дибирасулаев и др., 2017; Жмакин, 2008). В основном это механические повреждения, которые обусловлены:

- (1) образованием кристаллов воды и ростом их острых концов, которые при последующих тепловых подвижках повреждают клеточные мембраны;
- (2) образованием групп кристаллов, прикрепленных к стенкам живой клетке, которые при дальнейшем охлаждении деформируют прилегающую клетку;
- (3) укрупнением кристаллов и групп кристаллов при оттаивании и при достаточно продолжительном нахождении воды в эвтектическом состоянии.



В отличие от других веществ, образующих кристаллы, вода уже в жидком состоянии содержит их зачатки, часто называемые кластерами, имеющие весьма разные величины по числу объединённых молекул (от  $n = 200$  до  $n = 10\,000\,000$ ), способных поддерживать ядро кристаллизации (Жмакин, 2008). Направленность водородных связей молекул формирует кластер как многогранник (гексаэдр), который при температуре кристаллизации становится окончательно устойчивым вследствие перепада тепловой активности молекул воды в закритическую область.

Склонность воды к кристаллизации и рекристаллизации обуславливается еще и наличием в ней ионов других веществ с зарядом того или иного знака. При этом, с помощью электрического поля можно управлять размером зерен в поликристалле (Жмакин, 2008). Наличие криопротекторов (веществ меняющих характер замораживания) в воде провоцирует образование двупирамидальных кристаллов особенно при переохлаждении воды более  $-2,7\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Жмакин, 2008). Один из механизмов повреждения живых клеток — это проникновение кристаллов через отверстия в мембране, возникшие в результате электростатического пробоя. Отверстие при росте кристалла в нём расширяется и мембрана после оттаивания становится не способной выполнять свои функции (Ponomareva et al., 2020). Рост внеклеточного льда приводит к изменению трансмембранного потенциала и переориентации мембранных белков, обладающих дипольным моментом, что меняет проницаемость мембран. Таким образом, повреждение клеток при замораживании биологических объектов — это результат образования и роста кристаллов воды, входящей в состав клетки и окружающих её.

Многочисленными исследованиями, проведенными в разных странах, выявлено более двенадцати форм твердого состояния воды<sup>1</sup> (Жмакин, 2008; Зацепина, 1974; Пиментел & Мак-Клеллан, 1964; Шавлов, 2005; Шибков и др., 2001). Повышение давлений и скоростей охлаждения замерзающей

воды уменьшает размер формирующихся кристаллов и изменяет их взаиморасположение, что, собственно, и превращает первую, основную форму льда в другие двенадцать форм вплоть до аморфного, то есть в котором молекулы не укладываются в упорядоченную структуру, а устанавливаются в хаотическом состоянии. Кристаллы льда могут иметь разную величину, а также могут объединяться в группы образовывать поликристаллы. Их величина может достигать нескольких миллиметров и даже сантиметров, что легко наблюдаемо (Красильникова, 2021).

Кроме поликристаллов образуются еще и группы кристаллов, которые имеют форму близкую к гексагональной, двойной пирамидальной, а на плоских поверхностях прямоугольной. Отмечено, что и сами кристаллы и поликристаллы и группы кристаллов увеличивают свои размеры при уменьшении скоростей охлаждения<sup>1,2,3</sup> (Дибирасулаев, Белозеров, & Архипов, 2017; Жмакин, 2008). Физическое, самое простое и довольно поверхностное объяснение этого явления состоит в следующем. Структурированность воды, средняя величина ее кластеров — это своего рода баланс между электростатическими силами диполей молекул воды и межмолекулярными силами взаимного притяжения. Первые под воздействием температуры можно считать неизменными. Вторые с её повышением ослабляются. Следовательно, прогрев воды уменьшает ее структурированность, а охлаждение увеличивает.

Процессы перестроения кластеров, их увеличения и уменьшения в воде идут постоянно, но с той или иной скоростью, зависящей от энергетического состояния воды, которое может быть следствием внешних физических воздействий (Жмакин, 2008). Отбор энергии, например теплоотвод, останавливает уменьшение кластеров, а уменьшение уровня подвижности молекул до критического переводит неустойчивые кластеры в устойчивые кристаллы. Такое замедление молекул воды сопровождается тепловыделением и поэтому часть кластеров

<sup>1</sup> Кристаллизация льда. (2008–2022). Сайт Производство пищевых продуктов. О воде. Производство и применение льда. Строение льда. <http://www.comodity.ru/proizvodstvolda/stroenielda/1.html> (дата обращения 03.04.2022)

<sup>2</sup> Мосин, О.В., & Игнатов, И. (2006–2021). Тайны ледяных кристаллов. [https://www.o8ode.ru/article/krie/Secrets\\_of\\_the\\_ice\\_crystals](https://www.o8ode.ru/article/krie/Secrets_of_the_ice_crystals) (дата обращения 21.09.2021)

<sup>3</sup> Мосин, О.В. (2006–2021). Диэлектрические свойства воды и льда. [http://www.o8ode.ru/article/krie/Dielectric\\_properties\\_of\\_water\\_and\\_ice](http://www.o8ode.ru/article/krie/Dielectric_properties_of_water_and_ice) (дата обращения: 23.01.2022).

принявших это тепло продолжают находиться в докристаллическом состоянии и они способны благодаря своим электростатическим дипольным моментам присоединяться к близлежащим кластерам и кристаллам. Такое состояние вещества называют эвтектикой. Его продолжительность зависит от направления и скорости приёма и отдачи энергии молекулами воды. По логике вещей процесс построения кластеров характеризуется временем. Практикой отмечено, что при медленном замораживании визуально наблюдаемые кристаллы заметно крупнее (Шавлов, 2005). Последнее позволяет полагать, что уменьшая время роста кристаллов можно уменьшать их величину и за счет предварительного уменьшения кластеров, и за счет уменьшения времени на их последующий рост.

Многомолекулярные структуры воды, имеют некоторую преимущественную конфигурацию, которая может наращивать и уменьшать свой размер. Меньшей устойчивостью обладают большие структуры. Ослабление межмолекулярных связей, физическое воздействие на дипольный момент молекул будет способствовать уменьшению размера структур, тем самым уменьшая зародыши будущих кристаллов льда и увеличивая их количество в объеме воды после её замерзания<sup>4</sup> (Балаболин и др. 2019; Жмакин, 2008; Шавлов, 2005; Шибков и др. 2001; Ponomareva et al., 2023). Увеличение или уменьшение размеров этих зародышей обусловлено активностью молекул воды и их предварительной ориентацией относительно друг друга. Активность молекул является следствием усвоения тепла водой, а замораживание, снижение активности молекул воды до критического значения, наоборот является следствием отдачи водой тепла. Предварительное перед замораживанием дезориентирование молекул относительно друг друга и даже кластеров может быть проделано внешним энергетическим воздействием в направлении их пространственной хаотизации и уменьшения.

Для их обратного укрупнения потребуется какое-то время. Это время обусловлено скоростью отвода тепла и степенью дезориентации молекул воды. Поэтому любое внешнее воздействие, направленное

на увеличение теплоотвода и на уменьшение размеров структур воды, перед и во время замораживания будет способствовать в последствии уменьшению кристаллов льда в том числе и при переходе воды из жидкого состояния в твердое через эвтектическое состояние. Электромагнитная сущность молекулярных диполей воды из известных и доступных методов воздействия на нее, способствующих разрушению кластеров и остановке роста заостренных кристаллов, позволяет считать возможным использование для этого переменные магнитные и электрические поля<sup>5</sup>, ультразвук, инфракрасный, электромагнитный и конвективный подогрев при соблюдении теплового баланса обеспечивающего минимально возможное время замораживания (Балаболин и др., 2019; Ponomareva et al., 2023).

По совокупности качеств, к которым относятся техническая простота, технологическая универсальность, наилучшее соотношение между энергиями уменьшения кластеров воды и нагрева обрабатываемого объекта её содержащего можно отдать предпочтение низкочастотному переменному магнитному полю опробованному в поисковых исследованиях для пищевых технологий (Барышев и др., 2019).

Цель данного исследования: путем воздействия на воду до и во время замораживания выявить наличие влияния низкочастотного магнитного поля на величину и конфигурацию образовавшихся кристаллов и кристаллических соединений льда.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Введение

Поскольку основная цель исследований направлена на снижение повреждаемости биологических объектов при хранении в низкотемпературном режиме и выходе из него, а оценка её достижения потребует достаточно больших затрат, то в этих условиях рациональным представляется в качестве предварительного объекта исследования использовать непосредственно воду, не содержащую для чистоты опыта посторонних включений. Поисковыми

<sup>4</sup> Брагинцев, С.В. (2022). Отчет о НИР. №223020700801–1. *Разработать технологический регламент организации внутрихозяйственной системы переработки зерна и обеззараживания зерна и семян: 0505–2022–0007*. Волгоград: СКНИИМЭСХ ФГБНУ «АНЦ «Донской».

<sup>5</sup> Кудряков, И.В. (2022). Патент №2778148 РФ. *Способ бескристаллического замораживания водосодержащих продуктов питания*. Москва: ООО «Новые пищевые технологии».

исследованиями предполагается оценить влияние электрофизических воздействий именно на величину и форму кристаллов льда при их образовании в присутствии переменного магнитного поля.

## Критерии оценки

Важно обозначить критерий оценки воздействия на воду, с целью уменьшения размеров кристаллов и их заострений при её переходе из жидкого состояния в твёрдое. Критерий по возможности должен обладать следующими, зачастую противоречивыми, свойствами: иметь возможность цифрового выражения, быть приемлемым по затратам труда и средств для его определения, не требовать высокого уровня навыков и квалификации от персонала, допускать возможность сравнения для разных объектов оценки, иметь достаточную повторяемость при неизменности объекта оценки. На этапе поисковых исследований, проводимых методом визуального сравнительного анализа микроснимков льда, полученных при наличии (в опыте) и отсутствии (в контроле) воздействия на замораживаемую воду, использовали критерий вытекающий из признаков проявляющихся на изображениях сопутствующих преобладанию либо мелких (безопасных кристаллов), либо крупных кристаллов, которые как раз и сопровождаются образованием заострений. По совокупности признаков воздействие (переменным магнитным полем) в опыте считали проявившимся, слабо проявившимся или не проявившимся. Конечная оценка представлена процентным отношением.

## Факторы, влияющие на величину кристаллов при переходе воды в твердое состояние

Исходя из известных представлений о физическом механизме перехода воды из жидкой фазы в твердую и с учетом особенностей и условий проводимых экспериментов по выявлению влияния физических воздействий на замораживание, можно выделить следующие факторы, вызывающие изменение величины и формы кристаллов получаемого льда:

- (1) Скорость отвода тепла от охлаждаемой воды. Прямое либо косвенное определение этого параметра затруднительно. Представляется рациональным поддерживать этот фактор в опыте одинаковым для контрольного и для

опытного образцов посредством неизменности скорости воздуха в зоне охлаждения, одинаковости удерживающих устройств (места расположения замораживаемой воды), одинаковости температур для обоих образцов и одинакового количества замораживаемой воды.

- (2) Содержание в воде включений в виде твёрдых частиц и ионов химических веществ, способствующих или наоборот препятствующих зарождению и росту кристаллов (Коляда и др., 2022; Шавлов, 2005; Andreevet al., 2009a; Andreev et al., 2008; Rusco et al., 2019). Для этого так же рациональным представляется использовать одинаковую (дистиллированную) воду для контроля и образцов (Шавлов и др., 2007).
- (3) Уровень внешнего энергетического воздействия, то есть исследуемого фактора. Для чистоты эксперимента в контрольном образце он должен отсутствовать, а в опытном — соответствовать задаваемым значениям.

Кроме явных, возможно влияние и неявных случайных, факторов. К ним можно отнести: влажность воздуха, время установки образца в микроскоп, идентичность его настроек и другие, трудно учитываемые факторы. Минимизацию их влияния необходимо обеспечивать одинаковостью и чёткостью выполнения действий при проведении опыта, увеличением числа повторностей.

## Оборудование, инструменты, методы и процедура исследования

Главным условием экспериментального замораживания является одинаковость условий отвода тепла от контрольного и опытного образцов. Вторым условием должно быть поддержание достаточных отрицательных температур микроскопа и видеокамеры до окончания съемки. Эти условия обеспечивали настройками морозильного устройства. Опытным путём температуру его выбирали из следующих соображений — низкая отрицательная температура способствует уменьшению величины кристаллов, что мешает наблюдению магнитного воздействия, а повышенная отрицательная температура увеличивает время входа камеры и микроскопа в режим достаточных отрицательных температур, не допуская таяние льда в оцениваемых образцах

во время съёмки. Опытным путём была выбрана температура замораживания  $-7,2^{\circ}\text{C}$  с пределами: пуск начала охлаждения холодильной камеры при  $-6,8^{\circ}\text{C}$  и останов — при  $-7,3^{\circ}\text{C}$ , обусловленными допустимой повторностью включения двигателя компрессора морозильного устройства. Это обеспечивало эксплуатационный температурный допуск видеокамеры и достаточное охлаждение микроскопа по истечению двух часов.

В качестве морозильного устройства использовали камеру Haier HCE 103R типа «ларь», дополненную твердотельным выключателем и регулятором-измерителем температуры ТРМ-10. Внутри камеры был установлен лопастной прямооточный вентилятор (от блока питания (БП)). Для размещения устройств удержания воды и получения образцов льда использовали изготовленные из бумаги трубки, которые располагали вне зоны потока от вентилятора в нижней части камеры<sup>6</sup>.

Магнитное поле создавал соленоид с внутренним диаметром 30 мм, длиной обмотки 45 мм, наружным диаметром до 50 мм, намотанный проводом толщиной 1 мм. В качестве источника тока по нему использовали генератор ГЗ-109 и усилитель SONY-STR-DK5 (Максименко & Буханцов, 2022).

Воздействие переменного магнитного поля имело: периодический импульсный характер с продолжительностью импульса 1 с и паузы 50 с, индукцию 50 мТл, при частоте тока 600 Гц<sup>7</sup>. (Пахомов и др., 2021).

Для измерения магнитной индукции использовали микросхемный преобразователь (датчик Холла) SS49E и вольтметр В7–27/А1. Ток измеряли амперметром М381 с диодным мостом.

Устройства удержания воды и замораживаемого льда представляли собой: проволочную круглую

рамку (Шибков и др., 2001), прикрепленную к основанию из фольгированного стеклотекстолита, имеющему вырез, позволяющий заполнять рамку водой путем её окунания (Рисунок 1)<sup>6,8</sup>.

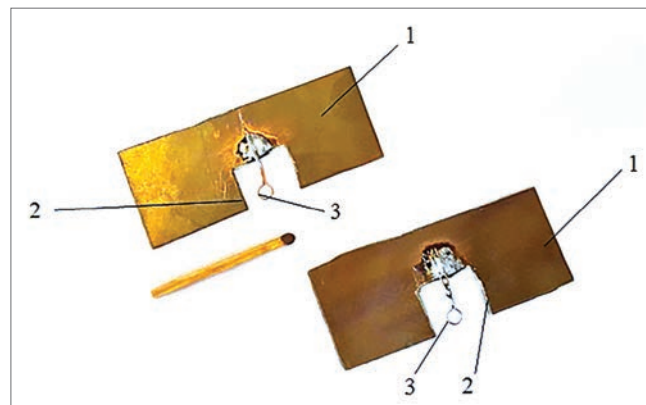
Диаметр рамки (3 мм) выбран экспериментально, из условия достаточности поля обзора объективом микроскопа и некоторой минимальности толщины плёнки и в то же время обеспечения устойчивости пленки на период полной кристаллизации. Поскольку в опытах использован метод сравнения двух образцов льда на двух рамках, то, естественно, эти рамки и их пространственное ориентирование относительно предметного столика микроскопа должны быть максимально идентичны.

Одинаковость водяной плёнки, минимальность её толщины и устойчивость при замораживании в зависимости от приемов ее окунания в воду также определяли опытным путем.

В исследованиях применили опробованный (Шибков и др., 2001) метод получения изображения ле-

**Рисунок 1**

Рамки в форме колец для образцов льда, получаемого из водяной пленки



Примечание. 1 — пластина из фольгированного стеклотекстолита; 2 — паз; 3 — рамка в форме кольца из медной проволоки.

<sup>6</sup> Брагинцев С.В., рук. (2022). Отчет о НИР. №223020700801–1. *Разработать технологический регламент организации внутрихозяйственной системы переработки зерна и обеззараживания зерна и семян: 0505–2022–0007*. Зеленоград: СКНИИМЭСХ ФГБНУ «АНЦ «Донской». <https://elibrary.ru/item.asp?id=49938213>

<sup>7</sup> Брагинцев С.В., рук. (2021). Отчет о НИР. №222020800014–5. *Разработать новые технологические принципы, процессы и технические средства в системе переработки и обеззараживания зерна и семян: 0706–2019–0006*. Зеленоград: СКНИИМЭСХ ФГБНУ «АНЦ «Донской». <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47847330>

<sup>8</sup> Шибков А.А., Желтов М.А., & Королев А.А. *Собственное электромагнитное излучение растущего льда* (Опубликовано: 02.06.2008, последняя редакция: 06.03.2012) [Электронный ресурс]. Сайт o8ode.ru/ Кристаллы воды. Лёд. Снег. — Электрон. дан.: runet, cop. 2006–2021. <https://www.o8ode.ru/article/krie/electro.htm>



данных кристаллообразований в проходящем поляризованном свете с его регистрацией цифровой камерой. В работе использованы были веб-камера UCMOS05100KPA, совместимая с персональным компьютером, оснащенная программой TourCam и принятая к оснащению микроскопов МИКМЕД-6, устройство простой поляризации проходящего света к микроскопу МИКМЕД-6 (АО «ЛОМО», г. Санкт-Петербург) и собственно сам микроскоп<sup>9,10</sup>.

Известный характер прохождения поляризованного света через оптически активные кристаллы, к которым относятся и кристаллы льда, позволили сформулировать признаки, определяющие пониженную и повышенную крупности кристаллов и кристаллоидов образцов льда, получаемых в ходе выявления наличия или отсутствия внешнего физического воздействия на кристаллизацию. В задачу электрофизического воздействия входит уменьшение заострений на перифериях кристаллов, которые напрямую связаны с их величиной (чем больше кристалл, тем больше в нем острых выступов).

При визуальной оценке микроснимков льда на крупность его кристаллов были обоснованы характерные признаки.

### Краткое обоснование признаков

Поскольку основной механизм повреждения живых клеток животного происхождения при их замораживании вызван ростом кристаллоидов обусловленным объединением первичных кристаллов с образованием заострений то всякий признак выявленный на микроснимке оцениваемого образца льда свидетельствующий в пользу или против укрупненности кристаллоидов может быть использован для оценки влияния внешнего физического воздействия на воду при её переходе в лёд, на крупность его кристаллоидов.

Рассмотрение микроснимков образцов льда показывает, что на подавляющем большинстве их просматриваются пузырьковые образования. При-

чем в образце они располагаются неравномерно, а преимущественно смещены к его центру — центру используемой кольцевой рамки, изготовленной из меди. Правомерно предположить, что поскольку пузырьки хорошо просматриваются это может обеспечиваться только наличием у них поверхности раздела сред. Замораживаемая вода дистиллированная, поэтому образование пузырьков жидкости с высокой солевой концентрацией исключено. Следовательно, остается считать природу пузырьков газовой. Их граничные поверхности на снимках просматриваются как более темные и даже черные. Что соответствует повышенному количеству оптически неактивных кристаллов на поверхностях раздела, образующих пузырьки. Смещение пузырьков к центру рамки объяснимо вектором теплоотдачи в сторону весьма теплопроводной медной рамки, от которой начинается и идет кристаллизация, образование и смещение пузырьков. Достаточно быстрая кристаллизация препятствует их укрупнению, смещению к центру, выходу в атмосферу. Эти признаки свидетельствуют в пользу образования мелких кристаллоидов и, следовательно, меньшей повреждаемости замораживаемых клеток (Kobelev et al., 2021).

На представленных микроснимках образцов льда, не подвергавшихся физическому воздействию и в меньшей мере подвергавшихся наблюдаются участки разного цвета: зеленого, желтого, розового, коричневого, черного. Все эти цвета имеют примесь белого.

Цветовая неоднородность проявляется через наличие достаточно больших участков одинаковой, отличающейся от других, цветности, что характеризует однонаправленность и одинаковость угла отклонения оптических осей кристаллов и, следовательно, одно направленность их роста при замораживании, которая сопровождает образование заострений способных повреждать живую клетку. Величину участков можно связывать с величиной кристаллоидов, которые в свою очередь привязаны к наличию заострений.

<sup>9</sup> Брагинцев С.В., рук. (2022). Отчет о НИР. №223020700801–1. *Разработать технологический регламент организации внутрихозяйственной системы переработки зерна и обеззараживания зерна и семян: 0505–2022–0007*. Зеленоград: СКНИИМЭСХ ФГБНУ «АНЦ «Донской».

<sup>10</sup> Шибков, А.А., Желтов, М.А., & Королев, А.А. (2006–2021). *Собственное электромагнитное излучение растущего льда*. <https://www.o8ode.ru/article/krie/electro.htm>

Так или иначе, участки разной цветности имеют между собой границы. Несмотря на тщательную фокусировку объектива и явное отсутствие конденсата на оптике, на образцах льда наблюдаются и чёткие и размытые границы участков. Объяснить эту оптическую реальность можно тем, что кристаллы на размытой границе имеют разную пере-межающуюся ориентировку оптических осей и са-мих кристаллов и кристаллоидов, в состав которых они входят. Такая ориентировка не способствует росту кристаллов в одном направлении, то есть об-разованию у них заострений, и выражается в пере-межающемся преломлении поляризованного све-та, что ведет к смещению цветов на границе между участками. Такое перемежение может возникать при недостатке времени на построение крупных кристаллоидов вследствие внешнего физического воздействия и потому размытость границ являет-ся признаком этого положительного воздействия уменьшающего их заострения.

На некоторых микроснимках наблюдаются участки черного (темного серого) цвета, что может объяс-няться отсутствием преломления белого поляри-зованного света прошедшего через две преломля-ющие поверхности, верхнюю и нижнюю, образца льда. Отсутствие преломления возможно при пол-ной перпендикулярности всех лучей поверхности раздела сред, что не характерно для льда с его кри-сталлическими неровностями. Наиболее прием-лемым является объяснение этого явления одно направленностью оптических осей кристаллов входящих в состав черного участка. То есть черные участки, или по меньшей мере их поверхности, мо-гут состояться из однонаправленных кристал-лов что приводит их к склонности образования заострений из-за непроявившегося внешнего воз-действия.

Микроснимки поверхностей льда встречающиеся в литературе (Андреев и др., 2017; Зырянов и др., 2012) показывают, что формы укрупненных кри-сталлоидов могут иметь характерный вид<sup>11</sup>. Их обозначенность на снимках свидетельствует об их крупности, которая сопровождается растущими за-острениями отрицательно влияющими на замора-живаемые биологические объекты.

Отмечаемый на микроснимках различный **уровень белизны** также может быть использован как при-знак положительного воздействия на величину кристаллов при замораживании. Высокий уровень белизны является следствием высокой хаотич-ности ориентации оптических осей кристаллов и невозможности построения кристаллоидов с за-острениями. То есть повышенную белизну можно считать признаком положительности внешнего физического воздействия на замораживание воды.

**Таблица 1**

Признаки положительного воздействия переменного магнит-ного поля или его отсутствия на микроснимках тонкого слоя льда в проходящем поляризованном свете

Признак	Вид на микроснимке	
	при непроявле-нии воздействия	при проявлении воздействия
Наличие, характер и количество пу-зырьковых образо-ваний	Увеличенный размер и боль-шое количество пузырьков	Уменьшенный размер и малое количество пузырьков
Цветовая неоднородность микро-снимка	Наличие много-цветности и боль-шие площади разных цветов	Выраженное преобладание одного-двух цветов
Размер и количе-ство участков оди-наковой цветности	Большие при большом количестве	Большие при малом количестве
Наличие и занима-емая часть микро-снимка участками повышенной белизны	Отсутствуют или мало	Присутствуют и много
Характер границ между участками разной цветности	Четкие	Размытые
Наличие участков с оптической неак-тивностью	Наличие и значи-мая часть	Отсутствие и малозначимая часть
Наличие участков с характерной фор-мой кристаллоидов	Есть в наличии	Отсутствуют

<sup>11</sup> Шибков, А.А., Желтов, М.А., & Королев, А.А. *Собственное электромагнитное излучение растущего льда*. <https://www.o8ode.ru/article/krie/electro.htm>

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Одновременным замораживанием контрольного и опытного образцов было получено и проанализировано 19 пар цветных снимков поверхности льда в проходящем поляризованном свете. Характерные из них представлены на Рисунках 2, 3, 4.

Снимок на Рисунке 2а (*контроль 9*): размер пузырьковых образований средний, цветовая неоднородность высокая, границы цветных участков выраженные, размеры цветных участков большие и средние, имеется большой черный оптически не активный участок в середине образца (около 35%), формы цветных участков характерны для

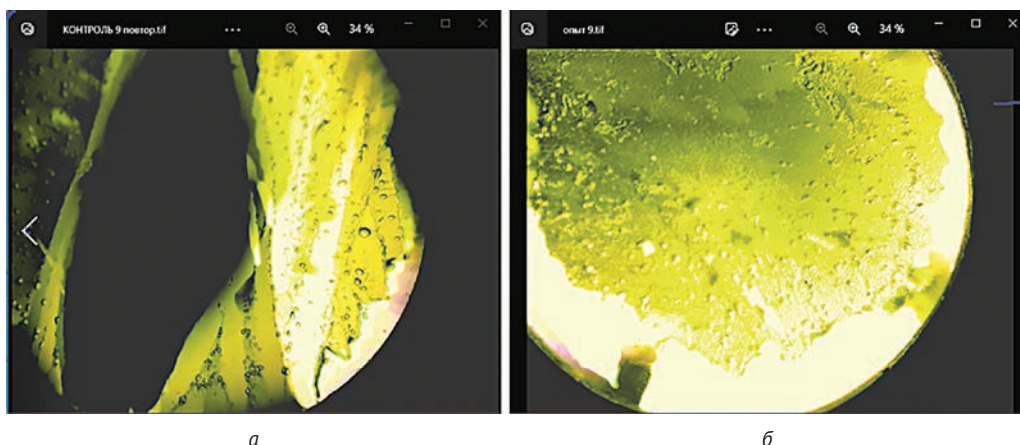
кристаллоидов льда, участок повышенной белизны не значительный.

Снимок на Рисунке 2б (*опыт 9*): размер пузырьковых образований средний при этом их форма в значительной части близка к мелкокристаллоидной, цветовая однородность высокая, границы цветных участков выражены нечетко, размер участка повышенной белизны значительный (до 30% площади), оптически не активный участок весьма мал.

Вывод: по совокупности признаков воздействие на опытный образец при его замораживании является положительным, уменьшает размер кристаллоидов льда и увеличивает хаотичность их ориентации.

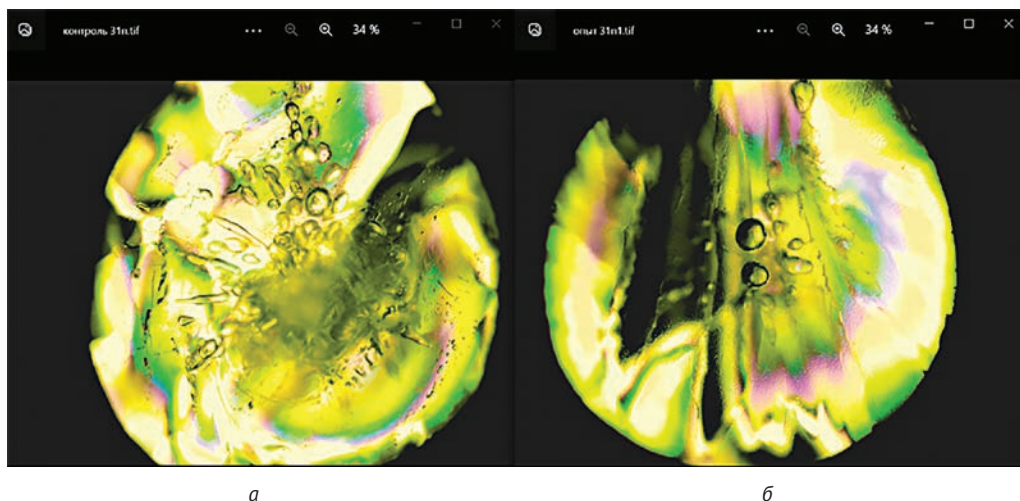
**Рисунок 2**

Снимки льда контрольного (а) и опытного (б) образцов при проявившемся воздействии



**Рисунок 3**

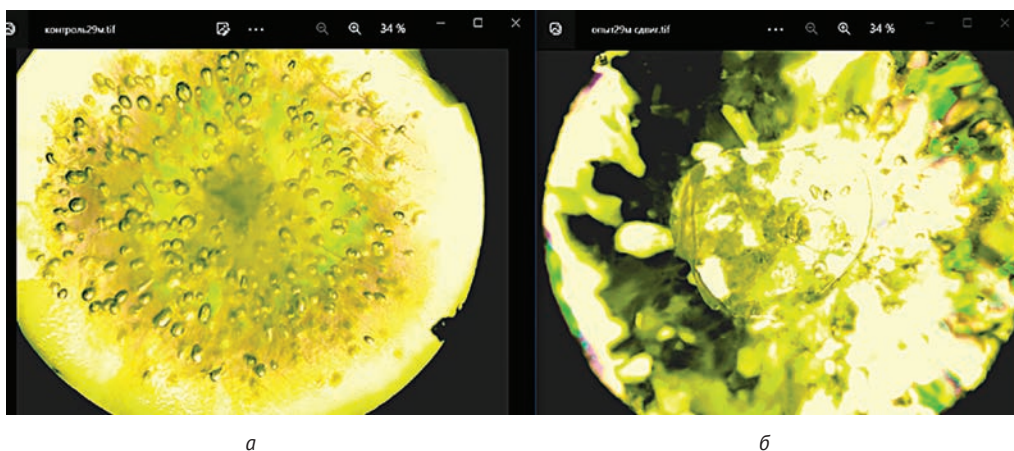
Снимки льда контрольного (а) и опытного (б) образцов при не проявившемся воздействии





**Рисунок 4**

Снимки льда контрольного (а) и опытного (б) образцов при слабо проявившемся воздействии



Снимок на Рисунке 3а (*контроль 31n*): пузырьковые образования крупные многочисленные, цветовая неоднородность большая, участки имеющие близкую цветность преимущественно большие, участки повышенной белизны перемежаются с другими и занимают около 50 %, границы между участками разной цветности достаточно четкие, участки с оптической неактивностью невелики и не выражены, участки с формами кристаллоидов отсутствуют.

Снимок на Рисунке 3б (*опыт 31n*): пузырьковые образования крупные малочисленные, цветовая неоднородность большая, участки имеющие близкую цветность преимущественно большие, участки повышенной белизны перемежаются с другими занимают около 40 %, границы между участками разной цветности четкие, оптически неактивный участок достаточно велик (около 15 %), участки с формами кристаллоидов просматриваются в средней части образца.

Вывод: воздействие не проявилось.

Снимок на Рисунке 4а (*контроль 29м*): пузырьковые образования в большом количестве, крупные по размеру, имеют невыраженную радиальную ориентировку, цветовая неоднородность небольшая, границы цветных участков размытые и практически отсутствуют, участок повышенной белизны занимает периферию образца и площадь более 25 %, участки с формой кристаллоидов не просматриваются.

Снимок на Рисунке 4б (*опыт 29м*): цветовая неоднородность высокая, но представлена преиму-

щественно оптически неактивными (черными) участками и участками повышенной белизны, пузырьковые образования практически отсутствуют, границы цветных участков средней четкости, участки повышенной белизны разбросаны, но имеют большую (около 40 %) общую площадь, участки с формой кристаллоидов слабо выражены и малочисленны.

Вывод: по совокупности признаков опытный образец в какой то мере воспринял воздействие, имеет невыраженную малую кристаллоидность и на значительных площадях повышенную хаотичность пространственной ориентировки кристаллов, что позволяет считать воздействие слабо проявившимся.

В проделанных опытах (38 снимков) положительность физического воздействия переменным магнитным полем на процесс кристаллизации дистиллированной воды проявилась в 70 % опытов, слабо проявилась в 20 % опытов и не проявилась в 10 % опытов.

Таким образом, цель представленного исследования состоящая в подтверждении существенности влияния переменного магнитного поля на уменьшение кристаллов льда можно считать достигнутой. Используемые при этом его параметры с высокой вероятностью далеки от наилучших. Поэтому процент повторяемости положительного физического воздействия на величину кристаллов льда дальнейшими исследованиями может быть повышен. Полученные результаты дополняют общую картину образования кристаллов льда в замораживаемых биологических объектах (Андреев и др.



2017; Барышев, и др., 2019; Жмакин, 2008; Пономарева, Неваленный, Белая, & Красильникова, 2017) представлениями и доказательствами значимости влияния переменного низкочастотного магнитного поля на характер кристаллизации. Это влияние пока что мало исследовано и носит частный прикладной характер (Барышев и др., 2019) и поэтому представленная работа дополняет и расширяет знания о процессе. Изложенное не противоречит известным исследованиям о других видах физических воздействий на кластеры воды при её замораживании: криопротекторному (Андреев и др., 2017), акустическому (Балаболин и др., 2019), ультразвуковому (Ponomareva, Firsova, Kovalenko, Polovinkina, Kuzov, Alexandrova, & Pakhomov, 2023). Анализ упомянутых исследований и собственные результаты опытов автора наводят на мысль о возможности эффективного использования для уменьшения кристаллов льда и предотвращения образования у них острых кромок сочетания нескольких физических воздействий. Так, например, автором было опробовано замораживание стандартного водного раствора яичного желтка в магнитном поле и был наблюдаем весьма положительный результат на процесс кристаллообразования.

В отличие от используемых ранее исследовательских методик с быстрым замораживанием воды в среде обеспечиваемой жидким азотом (Андреев и др., 2017) применённый способ медленного замораживания позволил существенно выделить влияние фактора магнитного воздействия на уменьшение кристаллов льда, что дало возможность выявить его существенность, уменьшить затраты на поисковый эксперимент включая приборы, оборудование и их освоение. Такой методический прием вполне приемлем для оценки и других физических воздействий на образование кристаллов льда.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

- Андреев, А.А., Садикова Д.Г., Ивлиева, Н.А., & Борода, А.В. (2017). Формирование микрочастиц льда в криозащитных растворах. Биофизика, 62(2), 213–220. Andreev, A.A., Sadikova, D.G., Ivlicheva, N.A., & Boroda, A.V. (2017). Formation of ice microparticles in cryoprotective solutions. Biophysics, 62(2), 213–220. (In Russ.)
- Балаболин, Д. Н., Иванов В.С., & Сидоренко Ю.И. (2019). Перспективы использования акустической заморозки для криобиоза рыбы с возможностью её реанимации после холодильного хранения. В *Церевитиновские чтения — 2019: Материалы VI Международной научно-*

## ВЫВОДЫ

В проделанных опытах (38 снимков) положительность физического воздействия переменным магнитным полем частотой 600 Гц, индукцией 50 мТл, продолжительностью импульса 1 с и паузы 50 с на процесс кристаллизации дистиллированной воды при  $-7,2^{\circ}\text{C}$  проявилась в 70 % опытов, слабо проявилась в 20 % опытов и не проявилась в 10 % опытов. На основании этого использованную методику визуальной оценки влияния физических воздействий на воду перед и при её замораживании на изменение структуры льда можно считать приемлемой для использования в исследованиях по оценке зависимостей размеров заострений на кристаллах и самих кристаллов, а воздействие переменного магнитного поля на замораживаемую воду можно рассматривать как достаточно эффективное средство, способствующее их уменьшению. Полученный результат позволяет считать необходимым продолжение дальнейших исследований физических воздействий, в частности магнитных, на кристаллизацию воды с приближением к практическому использованию: для замораживания в технологиях селекционных работ и искусственного воспроизводства поголовья в рыборазведении и животноводстве, при хранении пищевого сырья и продуктов. Целесообразны также дальнейшие исследования по определению наилучших параметров магнитного воздействия: магнитной индукции в импульсе, частоты колебаний в нём (в импульсе), продолжительности импульсов, продолжительности пауз между ними, а также опробование различных сочетаний физических воздействий с подбором их параметров. Параллельно с этими весьма необходимо установление границ биологической и экономической эффективности, применяемых магнитных и других физических и химических воздействий.

*практической конференции.* Москва: РЭУ им. Г.В. Плеханова.

- Balabolin, D.N., Ivanov, V.S., & Sidorenko, Yu.I. (2019). Prospects for using acoustic freezing for fish cryobiosis with the possibility of its reanimation after refrigerated storage. In *Tseravitin Readings — 2019: Proceedings of the VI International Scientific and Practical Conference.* Moscow: Plekhanov Russian University of Economics. (In Russ.)
- Барышев, М.Г., Лисицын, А.Б., Половодов, Ю.А., & Половодова, А.Ю. (2019). Влияние низкочастотного магнитного поля на процесс образования

- монокристаллов льда в охлаждённых мышечных тканях. *Все о мясе*, 3, 32–35.
- Baryshev, M.G., Lisitsyn, A.B., Polovodov, Yu.A., & Polovodova, A.Yu. (2019). The influence of low-frequency magnetic field on the process of forming ice monocrystals in chilled muscle tissues. *All About Meat*, 3, 32–35. (In Russ.)
- Белая, М.М., Красильникова, А.А., & Пономарева, Е.Н. (2018). Разработки Южного научного центра РАН в области криоконсервации репродуктивных клеток рыб. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*, 20(5–2), 280–286.
- Belaya, M.M., Krasilnikova, A.A., & Ponomareva, E.N. (2018). Developments of the Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences in the field of cryopreservation of fish reproductive cells. *News of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 20(5–2), 280–286. (In Russ.)
- Головкин, Н.А., Маслова, Г.В., & Скоморовская, И.Р. (1987). *Консервирование продуктов животного происхождения при субкриоскопических температурах*. Москва: Агропромиздат.
- Golovkin, N.A., Maslova, G.V., & Skomorovskaya, I.R. (1987). *Conservation of animal products at subcryoscopic temperatures*. Moscow: Agropromizdat. (In Russ.)
- Далецкая, Т.В., & Полякова, Е.Н. (1994). Влияние криоконсервации на прорастание семян и некоторые стадии метаболизма. В *Биофизика живой клетки. Криоконсервация генетических ресурсов в проблеме сохранения биоразнообразия: Сборник статей*. М.-Пушкино: Институт биофизики клетки РАН.
- Daletskaya, T.V., & Polyakova, E.N. (1994). The effect of cryopreservation on seed germination and some stages of metabolism. In *Biophysics of the Living Cell. Cryopreservation of genetic resources in the problem of biodiversity conservation: Collection of articles*. Moscow-Pushchino: Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences. (In Russ.)
- Дибирасулаев, М.А., Белозеров, Г.А., Архипов, Л.О. (2017). Разработка спектрофотометрического метода ускоренной идентификации замороженных блоков, выработанных из парного или охлажденного мяса, для обоснования выбора технологических режимов их размораживания. *Все о мясе*, 5, 48–52.
- Dibrasulaev, M.A., Belozеров, G.A., Arkhipov, L.O. (2017). Development of a spectrophotometric method for accelerated identification of frozen blocks made from paired or chilled meat to justify the choice of their defrosting technological regimes. *All About Meat*, 5, 48–52. (In Russ.)
- Дибирасулаев, М.А., Белозеров, Г.А., Дибирасулаев, Д.М., Орловский, Д.Е. (2016). Влияние субкриоскопической температуры хранения на количество вымороженной воды в NOR и DFD говядине. Теория и практика переработки мяса, 1(2), 18–25.
- Dibrasulaev, M.A., Belozеров, G.A., Dibrasulaev, D.M., Orlovsky, D.E. (2016). The influence of subcryoscopic storage temperature on the amount of frozen out water in NOR and DFD beef. Theory and Practice of Meat Processing, 1(2), 18–25. (In Russ.)
- Жмакин, А.И. (2008). Физические основы криобиологии. *Успехи физических наук*, 178(3), 243–266.
- Zhmakin, A.I. (2008). Physical foundations of cryobiology. *Advances in Physical Sciences*, 178(3), 243–266. (In Russ.)
- Зырянов, А.А., Шереметьев, М.В., Пронин, С.П., & Зрюмова, А.Г. (2012). Визуальное исследование кристаллизации водных растворов. *Ползуновский альманах*, 2, 140–141.
- Zyryanov, A.A., Sheremetyev, M.V., Pronin, S.P., & Zryumova, A.G. (2012). Visual study of the crystallization of aqueous solutions. *Polzunovsky Almanac*, 2, 140–141. (In Russ.)
- Зацепина, Г.И. (1974). *Свойства и структура воды*. Москва: Издательство Московского университета.
- Zatsepina, G.I. (1974). *Properties and structure of water*. Moscow: Moscow University Press. (In Russ.)
- Красильникова, А. А. (2021). Криоконсервация репродуктивных клеток рыб при сверхвысоких скоростях охлаждения. *Труды Южного научного центра Российской академии наук*, 9, 44–51.
- Krasilnikova, A.A. (2021). Cryopreservation of fish reproductive cells at ultra-high cooling rates. *Proceedings of the Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 9, 44–51. (In Russ.)
- Коляда, М.Н., Осипова, В.П., & Пономарева, Е. Н. (2022). Роль антиоксидантов в повышении криорезистентности спермы осетровых. В *Изучение водных и наземных экосистем: история и современность: Тезисы докладов II Международной научно-практической конференции*. Севастополь.
- Kolyada, M.N., Osipova, V.P., & Ponomareva, E.N. (2022). The role of antioxidants in increasing the cryoresistance of sturgeon sperm. In *Studying aquatic and terrestrial ecosystems: history and modernity: Abstracts of the II International Scientific and Practical Conference*. Sevastopol. (In Russ.)
- Красильникова, А. А. (2019). Оптимизация процесса подготовки репродуктивных клеток самцов рыб к криоконсервации. *Вестник рыбохозяйственной науки*, 6(4), 63–69.
- Krasilnikova, A.A. (2019). Optimization of the process of preparing male fish reproductive cells for cryopreservation. *Bulletin of Fisheries Science*, 6(4), 63–69. (In Russ.)
- Максименко, В.А., & Буханцов, К.Н. (2022). Расчет и выбор параметров электромагнита для обеззараживающего устройства зерна и семян. *Тракторы и сельскохозяйственные машины*, 89(3), 223–232.
- Maksimenko, V.A., & Bukhantsov, K.N. (2022). Calculation and selection of parameters of an electromagnet for a grain and seed disinfecting device. *Tractors and Agricultural Machinery*, 89(3), 223–232. (In Russ.)
- Пахомов, А.И., Максименко, В.А., Буханцов, К.Н., & Ватутина, Н.П. (2021). Исследование обеззараживающих свойств низкочастотных электромагнитных колебаний. *Техника и оборудование для села*, 9, 9–11.
- Pakhomov, A.I., Maksimenko, V.A., Bukhantsov, K.N., & Vatutina, N.P. (2021). Study of the disinfecting properties of low-frequency electromagnetic oscillations. *Equipment and Technology for the Village*, 9, 9–11. (In Russ.)
- Пиментел, Д.К., & Мак-Клеллан О.Л. (1964). Водородная связь. Москва: Мир.
- Pimentel, D.K., & McClellan, O.L. (1964). *Hydrogen bond*. Moscow: Mir Publishers. (In Russ.)

- Пономарева Е.Н., Красильникова А.А., Белая М.М., & Коваленко М.В. (2022). Сохранение биологического разнообразия методами криоконсервации: Опыт Южного научного центра РАН. *Морской биологический журнал*, 7(3), 80–87.
- Ponomareva, E.N., Krasilnikova, A.A., Belaya, M.M., & Kovalenko, M.V. (2022). Conservation of biological diversity by cryopreservation methods: Experience of the Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. *Marine Biological Journal*, 7(3), 80–87. (In Russ.)
- Пономарева, Е.Н., Невалянный, А.Н., Белая, М.М., & Красильникова, А.А. (2017). Использование криоконсервированной спермы для формирования маточного стада стерляди. *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство*, 4, 118–127. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2017-4-118-127>
- Ponomareva, E.N., Nevalenny, A.N., Belaya, M.M., & Krasilnikova, A.A. (2017). Use of cryopreserved sperm for forming the breeding stock of sterlet. *Bulletin of the Astrakhan State Technical University. Series: Fisheries*, 4, 118–127. (In Russ.) <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2017-4-118-127>
- Сторожева, Н.Н. (2006). Влияние длительного хранения семян сельскохозяйственных культур в условиях толщи многолетнемерзлых грунтов на жизнеспособность и фенотипическую изменчивость [Дис. канд. с.-х. наук]. Якутский НИИ сельского хозяйства.
- Storozheva, N.N. (2006). *The effect of long-term storage of agricultural crop seeds in permafrost conditions on viability and phenotypic variability* [Candidate of Agricultural Sciences dissertation]. Yakut Scientific Research Institute of Agriculture. (In Russ.)
- Чебанов, М.С., Галич, Е.В., & Чмырь, Ю.Н. (2004). *Руководство по разведению и выращиванию осетровых рыб*. Москва: ФГБНУ «Росинформагротех».
- Chebanov, M.S., Galich, E.V., & Chmyr, Yu.N. (2004). *Guide to the breeding and cultivation of sturgeon fish*. Moscow: Rosinformagrotech. (In Russ.)
- Шавлов, А.В., Рябцева, А.А., & Шавлова, В.А. (2007). "Сверхскользящий" лед для конькобежного спорта. *Криосфера Земли*, 11(2), 49–59.
- Shavlov, A.V., Ryabtseva, A.A., & Shavlova, V.A. (2007). "Super slippery" ice for speed skating. *Earth's Cryosphere*, 11(2), 49–59. (In Russ.)
- Шавлов, А.В. (2005) Электрический потенциал кристаллизации воды и растворов. Ионная модель. *Журнал физической химии*, 79(8), 1437–1441.
- Shavlov, A.V. (2005). The electric potential of water and solutions crystallization. Ionic model. *Journal of Physical Chemistry*, 79(8), 1437–1441. (In Russ.)
- Шац, М.М. (2019). Хранение семенного материала в низкотемпературных условиях. *Аграрная наука*, 6, 42–49. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-329-6-42-49>
- Shats, M.M. (2019). Storage of seed material in low-temperature conditions. *Agrarian Science*, 6, 42–49. (In Russ.) <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-329-6-42-49>
- Шибков, А.А., Желтов, М.А., & Королев, А.А. (2001). Растущий лед — источник электромагнитного излучения. *Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки*, 6(2), 162–169.
- Shibkov, A.A., Zheltov, M.A., & Korolev, A.A. (2001). Growing ice — a source of electromagnetic radiation. *Bulletin of Tambov University. Series: Natural and Technical Sciences*, 6(2), 162–169. (In Russ.)
- Andreev, A.A., Sadikova, D.G., Gakhova, E.N., Pashovkin, T.N., & Tikhomirov, A.M. (2009). Congelation of cryoprotective solutions and cryopreservation of fish sperm. *Biophysics*, 54(5), 612–616. <https://doi.org/10.1134/S0006350909050108>
- Andreev, A.A., Sadikova, D.G., Labbe, C., Ananiev V.I., & Kurchikov, A.L. (2008). Influence of lipids on ice formation in cryoprotective media. *Biophysics*, 53(4), 283–285. <https://doi.org/10.1134/S0006350908040076>
- Chetverikova, E. P. (2008). Dehydration in cryopreservation of moist plant tissues and seed maturation. *Biophysics*, 53 (4). 304–307. <https://doi.org/10.1134/S0006350908040131>
- Firsova, A., Ponomareva E., Krasilnikova, A., & Belaya, M. (2021). Study of the properties of the ovarian fluid of the Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt, 1833) during freezing. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. International Scientific Conference "Fundamental and Applied Scientific Research in the Development of Agriculture in the Far East" (AFE-2021)* (vol. 937, 022012). IOP Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/937/2/022012>
- Kobelev, A.V., Shishova, N.V., Ugraitskaya, S.V., Zalomova, L.V., Yashin, V.A., Penkov, N.V., & Fesenko, E.E. (2021). The effect of gases on the structural integrity of ice that forms when water and cryoprotective solutions are frozen: An optical-microscope study. *Biophysics*, 66 (5), 716–725. <https://doi.org/10.1134/S0006350921050092>
- Ponomareva E., Firsova A., Kovalenko M., Polovinkina M., Kuzov A., Alexandrova U., & Pakhomov V. (2023). Application of piezoactuators in the technology of low-temperature preservation of fish reproductive cells. In *E3S Web of Conferences: International Scientific and Practical Conference «Development and Modern Problems of Aquaculture» (AQUACULTURE 2022)* (vol. 381, p. 01074). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202338101074>
- Ponomareva, E. N., Firsova, A.V., Tikhomirov, A.M., & Andreev, A.A. (2020). Formation of ice microparticles in the ovarian fluid and homogenates of unfertilized Russian sturgeon eggs during cooling to –196°C. *Biophysics*, 65(3), 468–471. <https://doi.org/10.1134/S0006350920030173>
- Rusco, G., Iorio, M.D., Iaffaldano, N., Gibertoni, P.P., Esposito, S., Penserini, M., Roncarati, A., & Cerolini, S. (2019). Optimization of sperm cryopreservation protocol for mediterranean brown trout: A comparative study of non-permeating cryoprotectants and thawing rates in vitro and in vivo. *Animals*, 9(6), 304. <https://doi.org/10.3390/ani9060304>



УДК 664.8.039.4

# Ультразвуковая кавитация и её потенциальное влияние на микрофлору: Систематический обзор предметного поля

Т. Ю. Кондратенко<sup>1</sup>, В. В. Кондратенко<sup>2</sup>, М. Н. Курбанова<sup>1</sup>,  
Л. К. Пацюк<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, г. Видное, Российская Федерация

<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, г. Москва, Российская Федерация

## КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Кондратенко Владимир Владимирович  
E-mail: v\_kondratenko@vniimi.org

## ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

## ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Кондратенко, Т.Ю., Кондратенко, В.В., Курбанова, М.Н., & Пацюк, Л.К. (2023). Ультразвуковая кавитация и её потенциальное влияние на микрофлору. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 75–97. <https://doi.org/10.36107/spfr.2023.4.463>

ПОСТУПИЛА: 13.06.2023

ПРИНЯТА: 15.12.2023

ОПУБЛИКОВАНА: 30.12.2023

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.



## АННОТАЦИЯ

**Введение:** В процессе ультразвуковой обработки образуются кавитационные эффекты, приводящие к механическому и сонохимическому воздействию. В совокупности эти факторы могут способствовать проявлению антимикробного эффекта. Однако на сегодняшний день отсутствует цельное представление о степени влияния параметров ультразвукового излучения на разные виды, группы и формы микроорганизмов, позволяющие адекватно прогнозировать технологические режимы ультразвуковой антимикробной обработки.

**Цель:** Систематизация представлений об особенностях влияния параметров ультразвуковой кавитационной обработки, в том числе с учётом сопутствующих технологических факторов, на микрофлору и образуемые ею биоплёнки.

**Материалы и методы:** Анализ данных о реакции микроорганизмов на ультразвуковое излучение реализовывался на материале научных статей, диссертаций, монографий, доступных в открытом доступе или через легальные научные коммуникационные платформы. Поисковый запрос осуществлялся в базах данных ScienceDirect, PubMed, Mendeley, Google Scholar, ResearchGate и РИНЦ. Критерии отбора источников включали исследовательские работы, связанные с применением ультразвука в обработке культур микроорганизмов с установленной таксономической принадлежностью, представленных в форме суспензий спор или вегетативных клеток, а также биоплёнок. Период поиска охватывал период с 1993 по 2023 гг. В обзор не включались нерецензируемые, малоинформативные и не соответствующие теме исследования источники. При необходимости, для контекстуализации анализа использовались ссылки на работы старше 30 лет, доля которых не превышала 5.45%. Для представления материала в статье были адаптированы рисунки и таблицы. Численные данные из исследуемых источников были обработаны с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2010 (Microsoft Co.) и TableCurve 2D v.5.01 для выявления наличия или отсутствия синергетических эффектов.

**Результаты.** Систематизированы представления о возможных механизмах и факторах влияния ультразвуковой обработки на микроорганизмы. Показано влияние структуры и состава клеточных оболочек на устойчивость грамположительных и восприимчивость грамотрицательных микроорганизмов. Проявление антимикробного эффекта может быть увеличено комбинированием акустического кавитационного процесса с давлением и термическим воздействием. Такие комбинация позволяют кратно увеличить эффект при сохранении мягких условий обработки. Эффективность ультразвукового воздействия, вероятно, связано с возникновением акустической кавитации не только в среде, но и во внутриклеточном пространстве. Антимикробный эффект проявляется как для вегетативной, так и для спорной формы микроорганизмов. Эффект ультразвуковой обработки на биоплёнке определяется сочетанием интенсивности и частоты излучения.

**Выводы:** В этом исследовании систематизированы данные о влиянии ультразвуковой обработки на микроорганизмы, учитывая режимы обработки, структуру клеточных оболочек и сопутствующие факторы. Ключевую роль играет коллапсирующая кавитация. Разнообразие результатов подчёркивает необходимость дополнительных исследований, с акцентом на интенсивность и насыщенность кавитации. Эти результаты могут стимулировать разработку энергоэффективных и мягких технологий для повышения микробиологической безопасности пищевых продуктов.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

ультразвуковая кавитационная обработка, каверны, инактивация, микроорганизмы, жидкообразные пищевые системы



# Ultrasonic Cavitation and Its Potential Impact on Microflora: A Systematic Scoping Review

<sup>1</sup> Russian Scientific Research Institute of Food Technology – branch of Gorbатов Federal Scientific Center for Food Systems named after V.M. Gorbатов of the Federal Academy of Sciences, Vidnoe, Russian Federation

<sup>2</sup> Russian Dairy Research Institute Moscow, Russian Federation

## CORRESPONDENCE:

Vladimir V. Kondratenko

E-mail: v\_kondratenko@vniimi.org

## DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

## FOR CITATIONS:

Kondratenko, K.Yu., Kondratenko, V.V., Kurbanova, M.N., & Patsyuk, L.K. (2023). Ultrasonic cavitation and its potential impact on microflora: A systematic scoping review. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 75–97. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.463>

RECEIVED: 13.06.2023

ACCEPTED: 15.12.2023

PUBLISHED: 30.12.2023

## DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.



Tatyana Yu. Kondratenko<sup>1</sup>, Vladimir V. Kondratenko<sup>2</sup>,  
Madina N. Kurbanova<sup>1</sup>, Lyubov K. Patsyuk<sup>1</sup>

## ABSTRACT

**Introduction:** Ultrasonic processing generates cavitation effects, leading to mechanical and sonochemical impacts. Collectively, these factors can contribute to the manifestation of an antimicrobial effect. However, to date, there is no comprehensive understanding of the extent to which ultrasonic radiation parameters influence different types, groups, and forms of microorganisms, enabling adequate prediction of ultrasonic antimicrobial processing regimes.

**Purpose:** To systematize knowledge about the peculiarities of the influence of ultrasonic cavitation processing parameters, including accompanying technological factors, on microflora and the biofilms they form.

**Materials and Methods:** Data analysis on the reaction of microorganisms to ultrasonic radiation was based on scientific articles, dissertations, monographs available in open access, or through legal scientific communication platforms. Searches were conducted in databases such as ScienceDirect, PubMed, Mendeley, Google Scholar, ResearchGate, and РИНЦ. The criteria for selecting sources included research works related to the use of ultrasound in processing microorganism cultures identified taxonomically, presented as spore suspensions or vegetative cells, as well as biofilms. The search covered the period from 1993 to 2023. Non-peer-reviewed, less informative, and off-topic sources were excluded. When necessary for contextual analysis, references to works older than 30 years were used, constituting no more than 5.45 % of the total. Figures and tables were adapted for presentation in this article. Numerical data from analyzed sources were processed using Microsoft Excel 2010 (Microsoft Co.) and TableCurve 2D v.5.01 to detect the presence or absence of synergistic effects.

**Results:** Views on the potential mechanisms and factors of ultrasonic processing's influence on microorganisms were systematized. The influence of cell envelope structure and composition on the resistance of gram-positive and susceptibility of gram-negative microorganisms was shown. The manifestation of the antimicrobial effect can be enhanced by combining the acoustic cavitation process with pressure and thermal impact. Such combinations allow for a significant increase in effect while maintaining mild processing conditions. The effectiveness of ultrasonic treatment is likely related to the occurrence of acoustic cavitation not only in the medium but also within the intracellular space. The antimicrobial effect is observed for both vegetative and spore forms of microorganisms. The impact of ultrasonic treatment on biofilms is determined by the combination of intensity and frequency of radiation.

**Conclusion:** In this study, existing knowledge on the antimicrobial effects of ultrasonic treatment has been systematized, considering the treatment modes, cell wall structure, and accompanying factors. The collapsing cavitation effect plays a crucial role. The variety of results underscores the need for further research, focusing on the intensity and saturation of cavitation. These findings could stimulate the development of energy-efficient and gentle technologies to enhance the microbiological safety of food products.

## KEYWORDS

ultrasonic cavitation processing; cavities; inactivation; microorganisms; liquid food systems

## ВВЕДЕНИЕ

Применение ультразвуковой кавитационной обработки как одного из ключевых технологических процессов пищевых производств обладает широкими перспективами в области направленной трансформации пищевых систем, а также отдельных технологических и потребительских свойств пищевых продуктов (Оботурова и др., 2013; Кузьмичёв, 2016). Благодаря эффекту образования локальных областей разрыва сплошности дисперсионных сред — кавитационных каверн — в поле ультразвукового излучения и их последующему коллапсу с формированием мощных микроструй (джетов), ударных волн и температурных всплесков, частицы дисперсной фазы подвергаются агрессивному деструктурирующему механическому воздействию. Вследствие этого изменяется степень дисперсности обрабатываемой среды, увеличивается суммарная площадь поверхности частиц, что приводит к увеличению скорости диффузии компонентов дисперсной фазы в дисперсионную среду. Результатом этого является изменение вязкости системы, плотности, коэффициента поверхностного натяжения, насыщение ароматической составляющей, увеличение степени гомогенизации и т.д. (Федосенко и др., 2022). Возникающие сопутствующие сонохимические эффекты способствуют также и химической модификации образующих систему компонентов (Paniwnyk et al., 2016; Carrillo-Lopez et al., 2017). В совокупности, фундаментальные физические принципы, лежащие в основе кавитационных процессов (Leong et al., 2011), предполагают возможность деструктивного воздействия на отдельные структурные и химические компоненты микроорганизмов, присутствующих в пищевых системах, что, в идеале, должно способствовать проявлению некоторого стерилизующего (антимикробного) эффекта. (Антушева, 2011; Герасимов & Сучкова, 2014; Ansari et al., 2017; Lv et al., 2019; Liao, 2022). Сочетание такой возможности с технологическим потенциалом позволило бы сделать процесс получения жидкообразных пищевых систем с повышенной микробиологической безопасностью достаточно эффективным.

Однако в настоящее время отсутствует цельного представления о степени влияния параметров ультразвукового излучения на микроорганизмы различной таксономической принадлежности, различных групп по строению клеточных оболочек, а также — микробные биоплёнки. Такое

представление должно обеспечивать возможность адекватного прогнозирования технологических режимов ультразвуковой антимикробной обработки.

Цель данного обзора заключается в систематизации представлений об особенностях влияния параметров ультразвуковой кавитационной обработки, в том числе и с учётом сопутствующих технологических факторов, на микрофлору и образуемые ею биоплёнки.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Протокол и заявление о прозрачности

Протокол исследования включал триггерные позиции принадлежности анализируемых источников к экспериментальным и теоретическим исследованиям, касающимся воздействия ультразвукового излучения на устойчивость вегетативных и споровых форм микроорганизмов. В протокол были включены позиции воспроизводимости описываемых экспериментальных исследований, а также аргументированность и адекватность выводов и заключений теоретических исследований (в том числе обзоров). Протокол не размещали и не регистрировали на внешних репозиториях протоколов. Авторы подтверждают, что настоящая работа представляет собою честное, точное и прозрачное изложение проведённых исследований и что никакие важные аспекты не были упущены, либо проигнорированы.

### Стратегия поиска

Поиск проводили в базах ScienceDirect, PubMed, Mendeley, Google Scholar, РИНЦ по основанию принадлежности анализируемых источников к исследованиям, касающимся обработки ультразвуковым излучением с фиксированными условиями реализации процесса культур микроорганизмов идентифицированной таксономической принадлежности, представленных в виде суспензий спор или вегетативных клеток, а также — биоплёнками. Период поиска охватывал период с 1993 по 2023 гг. Использовали комбинации ключевых слов — «ультразвуковая обработка», «ультразвуковая кавитация», «акустическая кавитация», «микроорганизмы», «кинетика гибели», «коллапс» — в русском и английском вариантах.

## Исследуемая группа и критерии отбора

В исследуемую группу вошли статьи, диссертации, монографии и обзоры (в том числе — главы в монографиях), в которых авторы обсуждали проблему применения ультразвуковой обработки для достижения антибактериального эффекта и его возможные механизмы. В группу были включены электронные документы на русском, английском, немецком и французском языках, включающие оригинальные исследования, либо обзорный анализ совокупности таковых. Выборка была ограничена глубиной поиска и частотным диапазоном ультразвукового излучения в интервале от 18 до 1000 кГц.

## Скрининг и извлечение данных

Из отобранных источников извлекалась информация относительно отклика микроорганизмов на воздействие ультразвукового излучения, опубликованная в официально опубликованных научных электронных материалах, находящихся в открытом доступе, либо доступных для изучения посредством сервиса научной коммуникации ResearchGate.

## Анализ данных

В результате поиска по выбранным критериям было найдено 17 200 публикаций. Из них были исключены нерцензируемые, малоинформативные и дублирующие источники, а также источники, не относящиеся к теме исследования. При дублировании и/или дополнении предпочтения отдавали объектам в сторону уменьшения глубины поиска. В отдельных случаях, если того требовал контекст анализируемого материала, были использованы внутренние отсылки к материалам давностью более 30 лет. В результате в обзор вошли материалы анализа 110 публикаций, среди которых доля статей старше 30 лет не превысила 5,45%. Доля статей в пределах от 30 до 20 лет составила 2,73%, от 20 до 10 лет — 32,73%, материалы не старше 10 лет составили более 59,09%. Отдельные рисунки и таблицы были адаптированы для представления материала в данной статье. Отдельные численные данные, представленные в анализируемых источниках, были обработаны с использованием программного обеспечения

Microsoft Excel 2010 (Microsoft Co.) и TableCurve 2D v.5.01 для установления наличия, либо отсутствия синергических эффектов.

## Отклонения от протокола исследования

Среди проанализированных источников, вопреки протоколу, было небольшое количество старше 30 лет. Данные источники были включены в обзор для отражения первичной аргументации *ab initio* к использованию ультразвука для достижения антимикробного эффекта. Кроме того, в силу высокой степени разрозненности экспериментальных данных, представленных разными исследователями и исследовательскими группами, отдельные массивы данных были нами дополнительно обработаны.

# РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

## Влияние ультразвуковой кавитационной обработки на микроорганизмы

Как отмечают Nakonechny и Nisnevith (2021), впервые практическое применение ультразвуковой обработки для инактивации микроорганизмов было представлено в (Harvey & Loomis, 1928). Однако справедливости ради стоит заметить, что в последней статье приведена лишь ссылка на более раннюю работу (Wood & Loomis, 1927), где впервые исследовано влияние ультразвукового излучения на биологические объекты. При этом Wood и Loomis (1927) установили деструктивное воздействие ультразвуковой обработки высокой интенсивности частотой от 100 до 500 кГц на нитчатые водоросли *Spirogyra* и клетки инфузории туфельки (*Paramecium*). Авторы отмечали необратимое повреждение клеточных оболочек: клетки были механически разорваны. Исследование Wood & Loomis (1927) способствовало дальнейшим исследованиям в направлении усиления деструктирующего влияния ультразвука. Впоследствии было исследовано влияние ультразвуковой обработки на степень повреждения клеточной структуры микроорганизмов как таковой (Harvey & Loomis, 1929; Carstensen, 1986).

Ограниченность антимикробного эффекта не позволяла применять ультразвуковую обработку в ка-

честве метода инактивации микрофлоры (Cameron et al., 2008). Тем не менее, ультразвуковая обработка привлекает внимание как одновременно нетермический и нехимический метод контролируемого снижения микробиологической обсеменённости жидких пищевых систем (Carrillo-Lopez et al., 2017; Антушева, 2013), преимущество которого заключается в отсутствии побочных эффектов, характерных для обычной тепловой или химической обработки (Knorr et al., 2004; Lv et al., 2019; Tiwari et al., 2008; Dubrovi et al., 2011; Canesan et al., 2015; Zou & Jiang, 2016; Aadil et al., 2018; Onyeaka et al., 2021).

Со временем совершенствовалась не только техника обработки, но и ассортимент используемых сред. Так, эффект инактивации микроорганизмов в процессе ультразвуковой обработки был отмечен во фруктовых соках (Char et al., 2010), яблочном сидре (Lee et al., 2013; D'amico et al., 2006), экстрактах (Герасимов и Сучкова, 2014) и рассоле (Красуля и др., 2016). В работах (Аверина и др., 2018; Промтов и др., 2015) изучен антимикробный эффект ультразвуковой кавитационной обработки при подготовке водопроводной питьевой воды. Было установлено, что на степень выраженности антимикробного эффекта ультразвукового излучения низкой частоты в отношении отдельных представителей бактериальной микрофлоры (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*) оказывает влияние как интенсивность ультразвука, так и его частота (Scherba et al., 1991). Дальнейшее совершенствование представлений о механике про-

цесса показало, что применение ультразвуковой обработки в пищевых средах предполагает необходимость исследования особенностей распределения акустического давления или интенсивности в пространстве воздействия. При этом в качестве основного механизма ультразвукового воздействия преимущественно рассматривались локальные преобразования акустической энергии в тепловую, и уже непосредственное влияние последней на целевой объект (Антушева, 2013; Filonenko & Khokhlova, 1999).

Развитие представлений о динамике процесса с включением и факторов и сонохимической природы вследствие коллапса кавитационных каверн в процессе обработки жидкой среды, позволило предположить, что если в её объёме в это время будут находиться микроорганизмы, то кавитационные эффекты ультразвукового излучения могут способствовать необратимому нарушению структур клеточных оболочек в отношении её целостности, а также изменения концентрации растворённых компонентов в составе цитоплазмы за счёт изменения равновесной концентрации веществ вне и внутри клетки (Nakonechny & Nisnevith, 2021; Onyeaka et al., 2021; Потороко и др., 2013; Majid et al., 2015; Huang et al., 2017; Rani et al., 2020). На эффективность процесса немаловажно влияние оказывает интенсивность ультразвукового излучения (Cameron et al., 2008). Сочетание интенсивности с частотой во многом определяет биологический эффект ультразвуковой обработки (Рисунок 1).

### Рисунок 1

Биологические эффекты ультразвуковой обработки в зависимости от частоты и интенсивности излучения

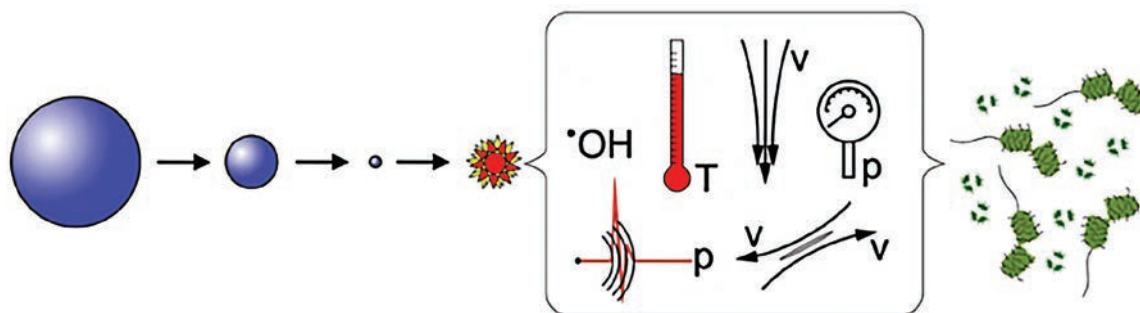
Высокая частота (> 500 кГц)			
Высокая интенсивность (> 5 Вт/см²)	– дезинтеграция колоний бактерий;	– увеличение проникновения химических агентов;	Низкая интенсивность (< 3 Вт/см²)
	– гибель бактерий	– стимуляция регенерации ткани	
	– акустический биоцидный эффект;	– увеличение активности химического агента;	
	– ультразвуковая очистка поверхностей	– увеличение бактериального роста	
Низкая частота (< 500 кГц)			

Примечание. Из "Biological and physiochemical methods of biofilm adhesion resistance control of medical-context surface," Y. Li, X. Li, Y. Hao, Y. Liu, Z. Dong, & K. Li, 2021, *International Journal of Biological Sciences*, 17(7), с. 1775 (<https://doi.org/10.7150/ijbs.59025>). Copyright 2021 by the Ivyspring International Publisher.



**Рисунок 2**

Ультразвуковое воздействие на микроорганизмы



*Примечание.* Из "Effects of cavitation on different microorganisms. The current understanding of the mechanisms taking place behind the phenomenon. A review and proposals for further research," M. Zupanc, Ž. Pandur, T. S. Perdih, D. Stopar, M. Petkovšek, & M. Dular, 2019, *Ultrasonics Sonochemistry*, 57, 147–165, Graphical abstract (<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.009>). Copyright 2019 by the Elsevier B.V.

Таким образом, антимикробный эффект ультразвукового излучения является следствием совокупного влияния механического, термического и сонохимического воздействия на микробиальные клетки, что возможно только в условиях возникновения в жидкообразной среде коллапсирующей акустической кавитации (Рисунок 2).

Эти выводы подтверждаются результатами исследований отечественных и зарубежных исследователей (Антушева, 2013; Carstensen, 1986; Аверина и др., 2018; Piyasena et al., 2003; Yusaf & Al-Juboori, 2014; Yusof et al., 2016; Красуля и др., 2015; Zupanc et al., 2019).

При этом, как отмечают Runyan et al. (2006), наибольшая гибель микроорганизмов происходит в начальные моменты воздействия кавитационного воздействия, тогда как полное обеззараживание — уже при равномерном распределении кавитационного эффекта в объеме обрабатываемой среды. В свою очередь Ansari et al. (2017) в качестве одного из основных механизмов антимикробного эффекта рассматривается образование свободных радикалов, атакующих затем генетический аппарат микробиальных клеток.

### Особенности влияния на грамположительные и грамотрицательные и микроорганизмы

Проявление эффекта ультразвуковой обработки на бактериальную микрофлору, предположительно, может быть следствием совокупного проявле-

ния нескольких механизмов. Так, при коллапсирующей кавитации, когда в жидкообразной среде энергии ультразвукового излучения достаточно для преодоления порога Блейка и верхнего порога Неппайраса, антимикробный эффект, вероятно, связан с возникновением интенсивных микроджетов у поверхности бактериальной клетки, образующихся в процессе коллапса кавитационных каверн. Возникающие в результате деформационные сдвиги могут приводить к различной степени механического нарушения целостности клеточных оболочек и, в итоге, — к их разрушению. Carstensen (1986) полагает, что в условиях ультразвуковой обработки повреждение микробиальных клеток происходит только вследствие кавитационного коллапса. С другой стороны, в при непреодолении указанных порогов, когда отсутствуют условия возникновения коллапсирующей кавитации, имеет место так называемая стабильная кавитация — некоторое ступенчатое нарастание линейных размеров кавитационных каверн без их финального схлопывания, с пульсацией на резонансной частоте. Runyan et al. (2006) отмечают, что возникающие при кавитационном коллапсе местные сдвиговые процессы также могут приводить к некоторым деформационным эффектам на бактериальные клеточные мембраны, сопровождающимся увеличением проницаемости последних к агрессивным агентам, которые могут присутствовать и/или образовываться во внешней по отношению к микроорганизмам среде, и к которым при обычных условиях микроорганизмы достаточно устойчивы — свободных радикалов, антибиотиков и др. Таким образом, эффекты воздействия ультразвукового излучения

на микроорганизмы с разной геометрической формой и анатомическим строением бактериальных оболочек неизбежно должны различаться.

Наибольшее анатомическое различие в строении клеточных стенок имеет место у грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов (Рисунок 3). Относительно толстый внешний слой пептидогликанов, пронизанный многочисленными нитями тейхоевой кислоты, представляет собою относительно подвижный демпфер для местных сдвиговых, струйных и ударных деформационных воздействий.

С другой стороны, в силу высокой инертности и вязко-пластичности, данный слой образует эластичный разрывоустойчивый каркас, что придаёт клеточным оболочкам существенное преимущество в стрессовых условиях воздействия ультразвукового излучения. Вследствие этого, как отмечено Nakonechny & Nisnevith (2021) и Zupanc et al. (2019), грамположительные бактерии проявляют большую стойкость к воздействию ультразвуковой обработки, чем грамотрицательные.

В то же время двухслойные клеточные оболочки грамотрицательных микроорганизмов, имеющие преимущество в нормальных условиях перед однослойными оболочками грамположительными вследствие весьма ограниченной проницаемости

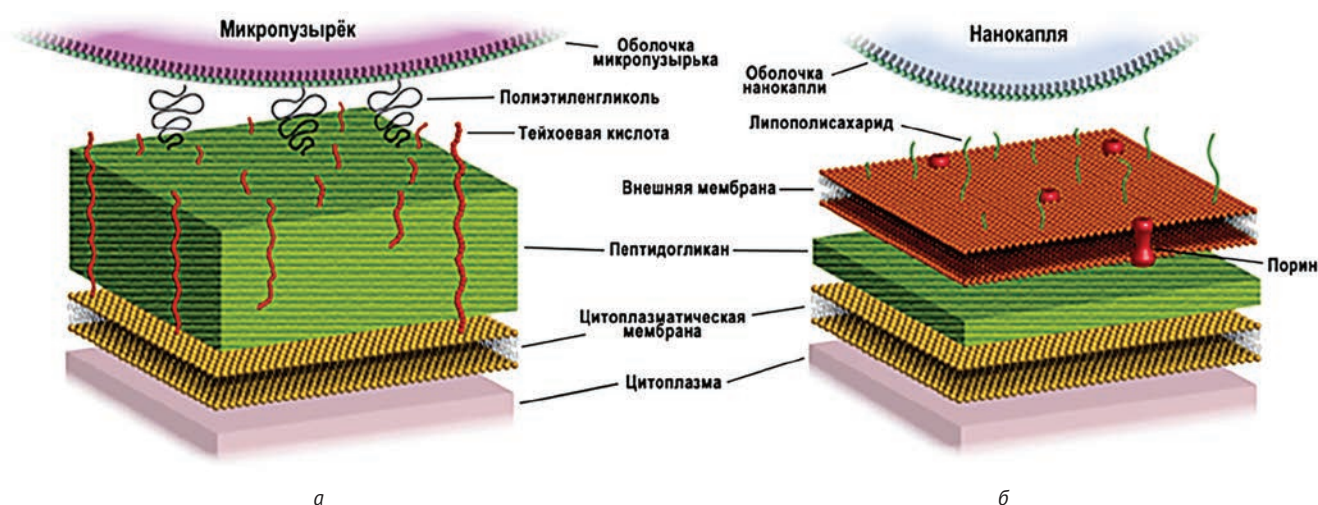
агрессивных агентов из внешней среды, в условиях деструктурирующего кавитационного влияния ультразвуковой обработки в значительной степени это преимущество утрачивают. Причина тому — деформация, повреждение и нарушение целостности внешнего слоя клеточной оболочки при воздействии ультразвукового излучения, в результате чего в отсутствие толстого пептидогликанового слоя (как у грамположительных микроорганизмов) резко увеличивается проницаемость оставшейся неповреждённой части клеточных стенок, либо же повреждение или их разрушение. Данный эффект экспериментально подтверждён в работах Промтов (2008), He et al. (2021), Sambegoro et al. (2021) и Guo et al. (2021) (Рисунок 4).

Исследования влияния ультразвуковой обработки на грамположительные микроорганизмы вида *Bacillus subtilis* (Scherba et al., 1991; Guo et al., 2021; Joyce et al., 2003) показали достаточно малую целевую эффективность: концентрация выживших клеток уменьшалась не более чем на 0,7 порядка при продолжительности обработки в пределах 15–20 минут.

В исследованиях Li et al. (2016), Li et al. (2017) и Liao et al. (2018) микроорганизмы вида *S. aureus* демонстрировали в отдельных случаях чуть больший эффект воздействия ультразвука — до одного порядка. При этом сравнительная оценка данных,

**Рисунок 3**

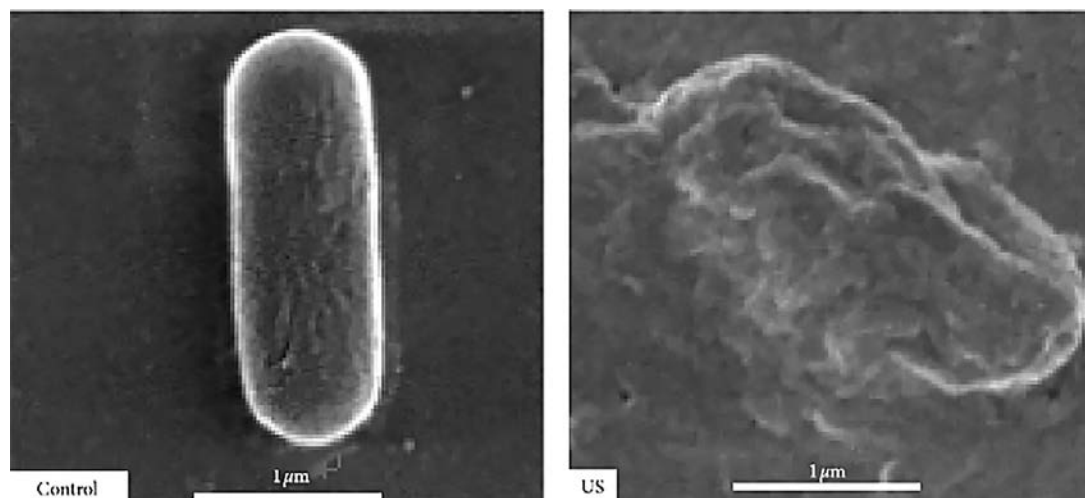
Структура клеточной стенки грамположительных (а) и грамотрицательных (б) бактерий



Примечание. Из "Sono bactericide: An Emerging Treatment Strategy for Bacterial Infections," K. R. Lattwein, H. Shekhar, J. J. P. Kouijzer, W. J. B. Van Wamel, C. K. Holland, & K. Kooiman, 2020, *Ultrasound in Medicine & Biology*, 46(2), с. 198 (<https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2019.09.011>). Copyright 2020 by the World Federation for Ultrasound in Medicine & Biology.

**Рисунок 4**

Повреждение клеточной оболочки *E. coli* в результате ультразвуковой кавитационной обработки



Примечание. Control – до обработки; US – после обработки.

Из "Efficacy and Mechanism of Ultrasound Combined with Slightly Acidic Electrolyzed Water for Inactivating *Escherichia coli*", L. Guo, X. Zhang, L. Xu, Y. Li, B. Pang, J. Sun, B. Wang, M. Huang, X. Xu, & H. Ho, 2021, *Journal of Food Quality*, Article ID 6689751, с. 5 (<https://doi.org/10.1155/2021/6689751>). Copyright 2021 by Hindawi, Open Access publishing for the scientific community.

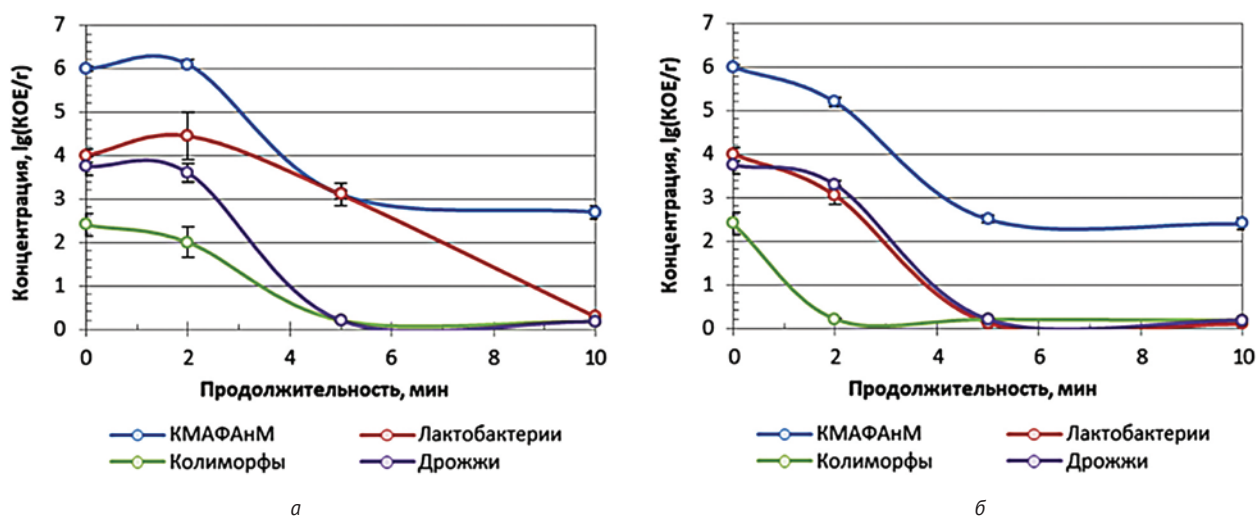
представленных в работах, показывает интересную закономерность: при частоте ультразвука 20 кГц увеличение интенсивности акустического излучения с 60 до 300 Вт/см<sup>2</sup> приводило к снижению антимикробного эффекта с одного до 0,3 порядка. С другой стороны, в более поздних исследованиях (Starek et al., 2021) показана диаметрально проти-

воположная тенденция: чем выше интенсивность, тем больший эффект.

Данная тенденция отмечена как для грамположительных, так и для грамотрицательных микроорганизмов (Рисунок 5).

**Рисунок 5**

Влияние продолжительности интенсивности ультразвуковой обработки на кинетику гибели микрофлоры в томатном соке



Примечание. а – 28 Вт/см<sup>2</sup>; б – 40 Вт/см<sup>2</sup>

Из "Influence of ultrasound on selected microorganisms, chemical and structural changes in fresh tomato juice," A. Starek, Z. Kobus, A. Sagan, B. Chudik, J. Pawlat, M. Kwiatkowski, P. Terebun, & A. Dariusz, 2021, *Scientific Reports*, 11, 3488 (<https://doi.org/10.1038/s41598-021-83073-8>). Copyright 2021 by Springer Nature Limited.

Результаты отдельных исследований показывают отсутствие полной однозначности в отношении устойчивости грамположительных микроорганизмов к обработке ультразвуковым излучением. Так, в отношении того же *B. subtilis* Gao et al. (2014a) показали антимикробный эффект в пределах 4,5 порядка при частоте 20 кГц и продолжительности процесса 20 минут. Позже при тех же условиях обработки эффект в 3,2 и 4 порядка отмечен, соответственно, в работах Bastarrachea et al. (2017) и Inguglia et al. (2018) в отношении *Listeria innocua*. Возможно, в данных исследованиях ключевую роль сыграли особенности среды, в которой находились микроорганизмы в момент оказания на них внешнего воздействия: во всех трёх исследованиях в качестве таковой выступала питательная среда, адаптированная к данным видам микроорганизмов. То есть в среде, обогащённой нутриентами, в процессе ультразвуковой обработки возникали условия, в значительной степени снижающие устойчивость микроорганизмов, несмотря на особенности строения клеточных оболочек.

В то же время Hawrylik (2019) на примере грамположительных бактерий рода *Sarcina* показано ключевое

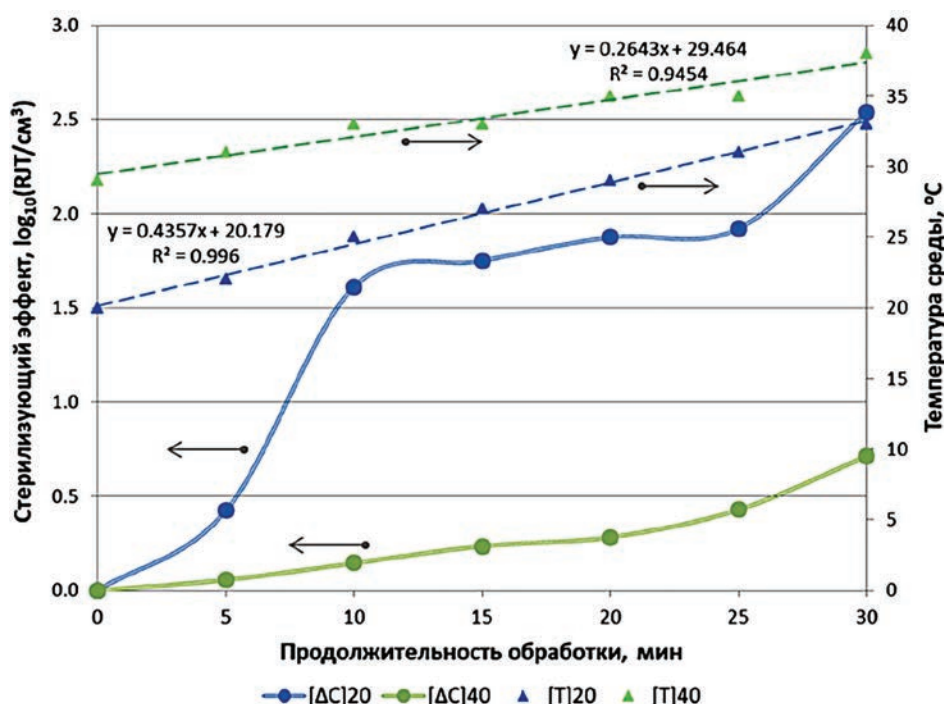
влияние частоты ультразвукового излучения на антимикробный эффект (Рисунок 6). Примечательно, что увеличение частоты с 20 до 40 кГц после 30-минутной обработки приводило к уменьшению эффекта с ~2,5 порядков до менее 1.

Вероятно, такое уменьшение эффекта связано с преодолением кавитационных порогов при прочих равных условиях в варианте с большей частотой излучения.

В отношении грамотрицательных микроорганизмов проявление антимикробного эффекта ультразвуковой обработки демонстрирует соответствие ожидаемому (Scherba et al., 1991; Li et al., 2017; Liao et al., 2018; Tandiono et al., 2012). Для разных видов микроорганизмов имело место различия в проявлении эффекта: от 2,7 порядков для *Pseudomonas aeruginosa* (Runyan et al., 2006) до 4,5–5 порядков для *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella spp.*, *S.boydii* и *E. coli* (Gao et al., 2014a; Gao et al., 2014b; Ramteke et al., 2020). При этом немаловажную роль играет как частота ультразвукового излучения, так и продолжительность обработки (Zupanc et al., 2019). Так,

Рисунок 6

Влияние частоты (20 и 40 кГц) и продолжительности ультразвуковой обработки на температуру среды (Т) и антимикробный (стерилизующий) эффект (ΔС) в отношении бактерий рода *Sarcina*



Примечание. Обработано по данным из "Ultrasonic Disintegration of Bacteria Contained in Treated Wastewater," E. Hawrylik, 2019, *Journal of Ecological Engineering*, 20, 171–176 (<https://doi.org/10.12911/22998993/112493>). Copyright 2019 by Polish Society of Ecological Engineering.



достаточно малый антимикробный эффект в отношении *Salmonella enterica* (около 1 порядка), показанный в работе (Cabeza et al., 2010), вероятно, связан с довольно малой продолжительностью: всего 48 с против 4–60 минут в других работах. Сравнительный анализ данных, представленных в работах (Cameron et al., 2008; Inguglia et al., 2018; Hunter et al., 2008; Lee et al., 2009), показывает, что при частоте излучения 20 кГц увеличение продолжительности обработки *E. coli* с 3 до 60 минут увеличивает эффективность с 2 до 6 порядков. Кроме того, как показали Nishiguchi K. с коллегами (2021) для *E. coli*, изменение частоты излучения нелинейно влияет на кинетику гибели, максимально проявляя себя при 430 кГц. Похожие результаты в отношении этого вида микроорганизмов зафиксировали и Joуse et al. (2011) при частоте 580 кГц. Однако и в данном случае имеют место противоречивые данные: при схожих условиях обработки Koda et al. (2009) отметили эффект, не превышающий 1 порядка.

Оригинальный механизм повреждения клеточных оболочек микроорганизмов вида *E. coli* представлен в исследованиях Cameron et al. (2008). Было отмечено возникновение под действием ультразвуковой обработки микропузырьков с размерами, не превышающими 620 нм. Они проявляли стабильность в течение всего периода обработки. Микроскопированием было установлено присутствие этих микропузырьков как внутри, так и снаружи клеток микроорганизмов. Как полагают Cameron M. с коллегами, образовавшиеся микропузырьки связаны с липополисахаридными мембранами и могут формироваться из внешней и внутренней клеточных мембран грамотрицательных бактерий при их кавитационной деструкции.

Carocelli et al. (2014) предложили модель, предполагающую, что темп ультразвуковой деструкции микроорганизмов пропорционален удельному количеству коллапсов с энергией, достаточной для преодоления некоторого энергетического минимума (энергии активации), необходимого для повреждения микробной клетки. То есть темп кавитационной инактивации микрофлоры обрабатываемой среды можно рассматривать в зависимости от произведение частоты коллапсов на количество образующихся кавитационных каверн в единице объёма.

В соответствии со спецификой ультразвукового кавитационного процесса и факторов, его опреде-

ляющих, для реализации антимикробного эффекта в жидких пищевых системах, предположительно, имеет целесообразность применения низкочастотной ультразвуковой обработки высокой интенсивности (Антушева, 2013; Потороко и др., 2013; Красуля и др., 2015; Тихомирова и др., 2011). При этом в обязательном порядке следует учитывать, что в процессе ультразвукового воздействия в объёме обрабатываемой среды могут иметь место локальные области пространства, в которых, стохастически, скопления микроорганизмов не будут подвергаться инактивации, уменьшая таким образом общую эффективность обработки (Капустин & Красуля, 2016). Следовательно, чем выше концентрация микроорганизмов, тем продолжительнее должно быть воздействие для достижения стерилизующего эффекта (Антушева, 2013). С уменьшением концентрации соответственно уменьшается и интенсивность деструкции: чем меньше микроорганизмов в среде, тем меньше их попадает в зону коллапсирующих каверн. С другой стороны, антимикробная эффективность может быть увеличена принудительным насыщением воздухом или газом для создания условий интенсификации кавитационного процесса.

В целом, на эффективность ультразвуковой обработки оказывает влияние сразу комплекс факторов, таких как частота и интенсивность акустического излучения, продолжительность процесса, температура среды, давление, интенсивность кавитационного эффекта (Антушева, 2013; Ganesan et al., 2015; Raso et al., 1998; Eliseev et al., 2017), вид пищевой среды, её плотность и динамическая вязкость, коэффициент поверхностного натяжения, активная кислотность (Антушева, 2013; Zupanc et al., 2019; Cárcel et al., 2012), степень обсеменённости микроорганизмами и др. При варьировании этих факторов можно в итоге добиться как инактивации микроорганизмов, так и стимуляции роста и развития (D'amico et al., 2006; Попова & Фатеева, 2014). При ультразвуковой обработке последнее является нежелательным эффектом (Шестаков и др., 2011).

Однако Li et al. (2016) и Butz & Tauscher (2002) эффективность применения только ультразвуковой обработки для снижения контаминации сред ставится под сомнение в силу нестабильного антимикробного эффекта. По мнению Carrillo-Lopez et al. (2017) сочетание с другими методами обработки может приводить к увеличению целевой эффективности.

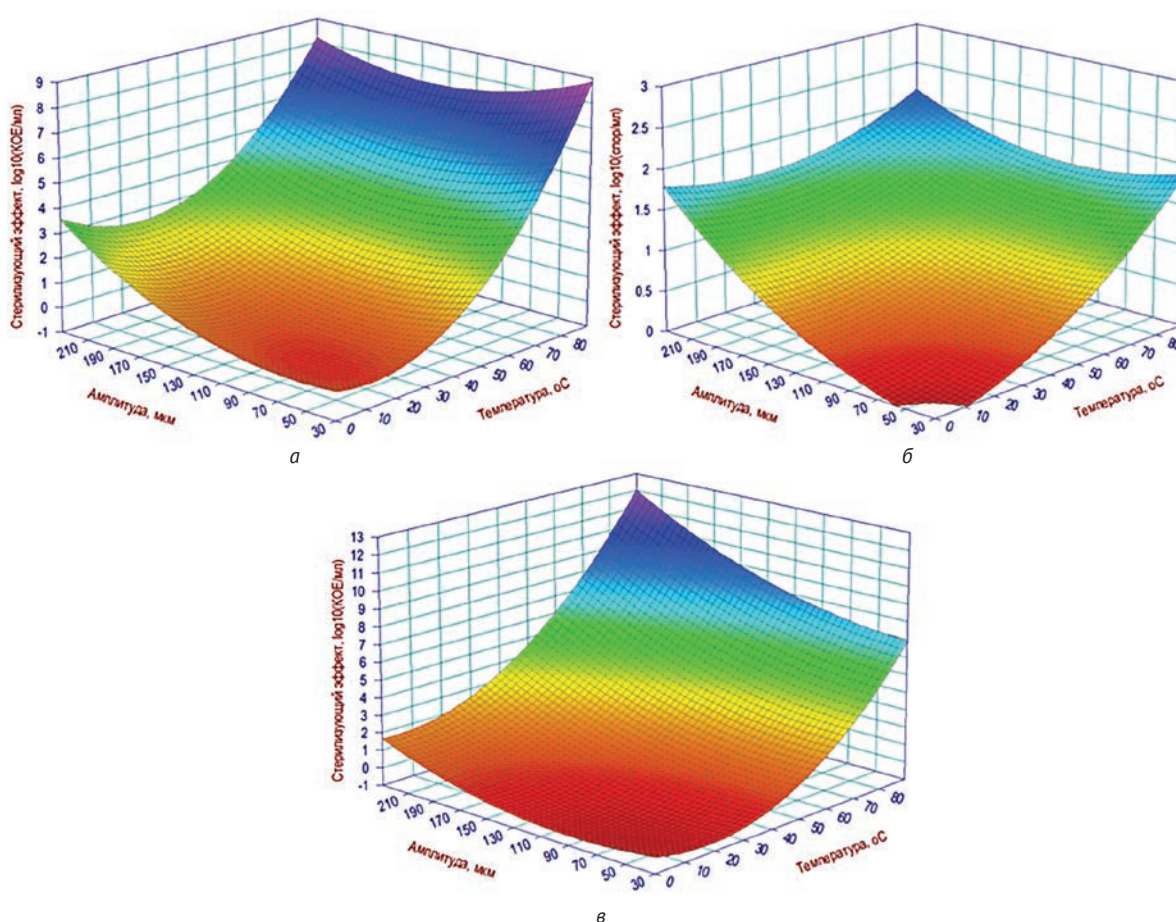
## Влияние комбинированной обработки на инактивацию микроорганизмов в жидких пищевых средах

В последние годы проводились исследования, посвящённые применению нетермических технологий для снижения интенсивности теплового воздействия при стерилизации сред путём комбинирования ультразвуковой и термической обработки (Lv et al., 2019). Результаты исследований Gera & Doores (2011) подтвердили целесообразность применения совместного воздействия ультразвука (частота 22 кГц, мощность 85 Вт) и температуры (35 °C) для инаktivирования микроорганизмов рода *Listeria* и вида *E. coli* в цельном и обезжирен-

ном молоке. Также положительный эффект комбинированной обработки был установлен в отношении бактериальной микрофлоры морсах (при пастеризации) (Иванова и др., 2019), в молоке (Ganesan et al., 2015; D'amico et al., 2006; Rani et al., 2020; Bermúdez-Aguirre et al., 2009a; Bermúdez-Aguirre et al., 2009b; Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2012; Czank et al., 2010; Abesinghe et al., 2019), а также бактерий и дрожжей в апельсиновом соке (Ganesan et al., 2015; Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2012; Shen et al., 2021). При этом зависимость антимикробного эффекта от амплитуды излучения и температуры носит выраженный нелинейный характер (Рисунок 7).

**Рисунок 7**

Влияние температуры и амплитуды ультразвуковой обработки на антимикробный (стерилизующий) эффект в отношении нативной микрофлоры (а) и инокулята спор *Bacillus atrophaeus* (б) в молоке и инокулята *S. cerevisiae* в апельсиновом соке (в)



*Примечание.* Из “Determining the effects of high intensity ultrasound on the reduction of microbes in milk and orange juice. Using response surface methodology”, B. Ganesan, S. Martini, J. Solorio, & K. W. Marie, 2015, *International Journal of Food Science*, Article ID 350719, с. 5 (<https://doi.org/10.1155/2015/350719>). Copyright 2015 by Hindawi, Open Access publishing for the scientific community.

В других исследованиях при применении комбинированного воздействия отмечено снижение концентрации *E. coli*, *Salmonella enteritidis* в соке из манго (Kiang et al., 2013), виноградном соке (Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2012), апельсиновом соке (Valero et al., 2007; Muñoz et al., 2011), томатном соке (Adekunte et al., 2010). Антимикробный эффект имел место и в отношении аскоспор *Saccharomyces cerevisiae* при комбинированной обработке пива (Milani & Silva, 2017). Исключением не стали и среды из мясного сырья. Так в работах (Evelyn & Silva, 2015) установлен некоторый эффект (в пределах 1.5 порядка) в отношении *Clostridium perfringens* при комбинированной обработке говяжьего фарша.

Анализ результатов исследований Shen et al. (2021) показал, что в отношении ультразвуковой обработки ключевым фактором является не столько произведение мощности излучения и продолжительности обработки, определяющее дозу, но так-

же и градиент акустической энергии, выраженный мощностью:

$$F = (W \cdot \tau) \cdot W = W^2 \cdot \tau, \quad (1)$$

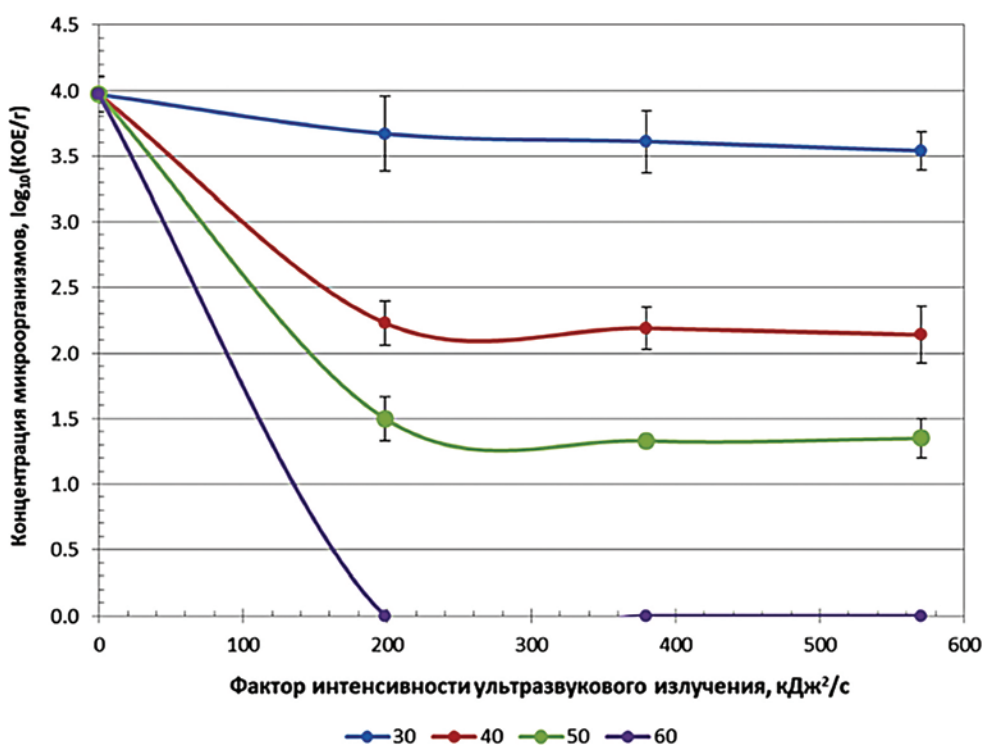
где  $F$  — фактор интенсивности ультразвукового излучения, Дж<sup>2</sup>/с;  $W$  — мощность ультразвукового излучения, Вт;  $\tau$  — продолжительность обработки, с.

При этом, в нормированной метрике процесса, явным становится влияние температуры на общую эффективность обработки. Так, увеличение температуры с 35 до 60 °С приводило к уменьшению концентрации микрофлоры в неосветлённом яблочном соке с ~0,5 до более чем 4 порядков (Рисунок 8).

Ожидаемое положительное влияние температуры на проявление антимикробного эффекта ультразвуковой обработки отмечено также в (Cameron, 2007).

**Рисунок 8**

Влияние фактора интенсивности ультразвукового излучения и температуры среды на кинетику выживаемости бактериальной микрофлоры в неосветлённом яблочном соке



Примечание. Из “Effects of temperature-controlled ultrasound treatment on sensory properties, physical characteristics and antioxidant activity of cloudy apple juice”, Y. Shen, D. Zhu, P. Xi, T. Cai, X. Cao, H. Liu, & J. Li, 2021, *LWT*, 142, 111030 (<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111030>). Copyright 2015 by Elsevier Ltd.

Таблица 1

Влияние ультразвуковой, тепловой и комбинированной обработки на патогенные микроорганизмы в молоке

Вид микро-организмов	Условия обработки					
	US**	US + 52 °C	63 °C	US + 63 °C	72 °C	US + 72 °C
<i>Escherichia coli</i>	5.72*/1,93	3,96/2,14	1,44/4,61	5,991/0,75	n.c.	6,172/0,26
<i>Bacillus cereus</i>	1,41/n.c.	0.31/n.c.	0.06/n.c.	0.56/n.c.	0.07/n.c.	0.65/n.c.
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0.91/n.c.	1.58/5.53	1.68/3.68	4.68/2.20	6.241/0.45	6.481/n.c.
<i>Micrococcus luteus</i>	1.32/5.85	0.84/n.c.	0.02/n.c.	1.59/2.93	3.16/3.14	6.221/0.76

Примечание. US — ультразвуковая обработка 10 мин (если не указано иное), 750 Вт, 20 кГц; \* в числителе антимикробный эффект обработки,  $\log_{10}(\text{КОЕ}/\text{см}^3)$  / в знаменателе — показатель устойчивости  $D$ , мин; \*\* ультразвуковая обработка при температуре среды 25 °C;

<sup>1</sup> продолжительность обработки 4 мин; <sup>2</sup> продолжительность обработки 2 мин; n.c. — не определено

Из "Impact of low-frequency high-power ultrasound on spoilage and potentially pathogenic dairy microbes," M. Cameron, 2007, Dissertation for the degree of Ph.D. in Food Science. Stellenbosch: University of Stellenbosch (<https://core.ac.uk/download/pdf/37319109.pdf>). Copyright 2007 by University of Stellenbosch.

Однако анализ отдельных представленных в работе данных (Таблица 1) показывает достаточно высокую степень неоднородности в проявлении эффекта в отношении как разных значений температуры, так и разных видов микроорганизмов.

Так, если для *E. coli*, *L. acidophilus* и *M. luteus* сопутствующее увеличение температуры до 72 °C приводило к увеличению эффекта, то в отношении *B. cereus* — имела место прямо противоположная картина. Примечателен факт первоначального снижения эффекта при температуре 52 °C для всех представленных видов микроорганизмов с динамикой его увеличения при дальнейшем повышении температуры. Общность фиксируемых динамик позволяет предположить, что и для *B. cereus* возможно достижение положительного эффекта комбинированной обработки, но уже при более высоких значениях температуры.

Ugarte-Romero et al. (2007) исследуя отклик *Shigella boydii* и *Listeria monocytogenes*, утверждают, что для инактивации микроорганизмов существует некоторый верхний температурный предел (~60 °C), при повышении которого преимущества комбинированной обработки практически нивелируются.

Одним из путей увеличения эффективности ультразвуковой обработки для снижения микробиологической обсеменённости сред является вклю-

чение давления в состав активных факторов. Raso et al. (1998) и Evelyn & Silva (2015), обосновывают, что такой подход способствует инаktivации спор микроорганизмов, изначально устойчивых к ультразвуковой обработке.

Сравнительная оценка степени снижения концентрации спор *Bacillus cereus* в вариантах моно- (только ультразвуковой, либо только термической обработкой) и разных сочетаниях комбинированного воздействия (ультразвук и температура, ультразвук и давление, все три вида одновременно) в зависимости от продолжительности обработки (Таблица 2) показывает наличие статистически значимого эффекта тройного сочетания технологических факторов (Lv et al., 2019).

Тройное воздействие сопровождалось частичной деградацией экзоспориума, снижая адгезию спор поверхностей, а также — деградацией кортекса и принудительной гидратацией ядра. Аналитическая обработка представленных в статье Lv et al. (2019) данных показала наличие некоторых синергических эффектов парной (ультразвук и температура) и тройной (ультразвук, температура и давление) обработки по сравнению с суммами эффектов соответствующих моновоздействий (первичный показатель синергизма  $K$ ) (Рисунок 9).

При этом отношение показателя  $K$  для тройной комбинированной обработки к таковому для ком-



**Таблица 2**

Антимикробный эффект моно- и комбинированной обработки суспензии спор *B. cereus*

Вид обработки	Продолжительность обработки, мин					
	5	10	15	20	25	30
T	0.05 ± 0.04	0.12 ± 0.03	0.20 ± 0.06	0.26 ± 0.07	0.31 ± 0.08	0.38 ± 0.12
S	0.01 ± 0.06	0.03 ± 0.05	0.08 ± 0.03	0.09 ± 0.07	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.03
TS	0.10 ± 0.07	0.26 ± 0.08	0.41 ± 0.17	0.43 ± 0.07	0.46 ± 0.03	0.51 ± 0.08
MS	0.01 ± 0.03	0.08 ± 0.08	0.15 ± 0.03	0.13 ± 0.06	0.17 ± 0.02	0.30 ± 0.02
MTS	1.18 ± 0.10	1.59 ± 0.01	2.30 ± 0.02	2.80 ± 0.01	3.05 ± 0.01	3.12 ± 0.03

Примечание: T – только температурная обработка при °C; S – только ультразвуковая обработка при; TS – комбинированная температурная и ультразвуковая обработка; MS – комбинированная обработка ультразвуком и давлением; MTS – комбинированная обработка температурой, ультразвуком и давлением

Из “Effect of ultrasonication and thermal and pressure treatments, individually and combined, on inactivation of *Bacillus cereus* spores,” R. Lv, M. Zou, T. Chantapakul, W. Chen, A. I. Muhammad, J. Zhou, T. Ding, X. Ye, & D. Liu, 2019, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(5), с. 2333 (<https://doi.org/10.1007/s00253-018-9559-3>). Copyright 2019 by Springer-Verlag GmbH.

бинации температуры и ультразвука (вторичный показатель синергизма  $K_2$ ) показывает весомый вклад давления в совокупный антимикробный эффект.

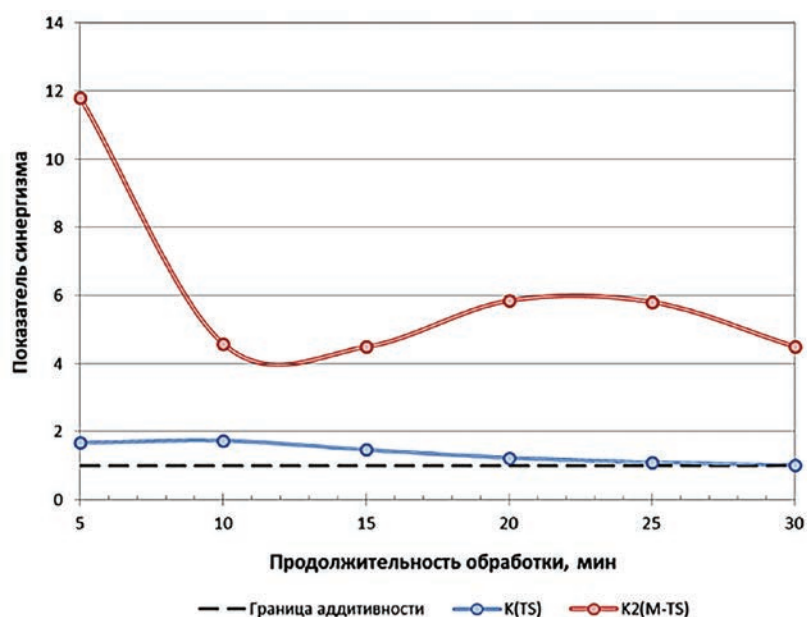
При этом максимум синергизма приходится на первые минуты обработки, с последующим затуханием по истечении 30 мин. На основании результатов исследований Lv R. с коллегами (2019) пола-

гают, что комбинация ультразвуковой обработки в сочетании с термической и давлением могут быть приемлемой альтернативой термической стерилизации.

Эффективность тройной комбинированной обработки в отдельных случаях показывало более высокий результат и для вегетативной формы микрофлоры (Raso et al., 1998; Álvarez et al., 2003;

**Рисунок 9**

Динамика синергизма видов комбинированной обработки споровой суспензии *B. cereus* в вариантах «температура – ультразвук» (TS) и «давление – температура – ультразвук» (M-TS)



Raso & Barbosa-Canovas, 2003). В качестве одного из ключевых механизмов антимикробного эффекта по (Raso et al., 1998; Evelyn & Silva, 2015; Chemat et al., 2011), предположительно, является усиление интенсивности образования и последующего коллапса кавитационных пузырьков как в среде, так и в протоплазме клеток в условиях термического уменьшения вязкости сред и барического повышения растворимости газов.

### **Влияние ультразвуковой кавитационной обработки на микробные биоплёнки**

Большинство видов бактерий, встречающихся в природе, имеют тенденцию в определённых условиях прикрепляться к поверхности объекта, образуя локальные колонии с последующим формированием структурированных экосистем — биоплёнок (Carrascosa et al., 2021; Sun et al., 2021; Zhu et al., 2022). Последние обладают повышенной устойчивостью к внешним неблагоприятным факторам, что является серьёзной проблемой на пути обеспечения высокого уровня микробиологической безопасности при промышленном производстве пищевых продуктов. В этой связи особый интерес вызывают вопросы потенциала эффективности применения ультразвукового излучения для борьбы с биоплёнками.

Процесс образования биоплёнок начинается с адгезии микроорганизмов с последующим образованием и накоплением внеклеточного матрикса, включающего один или нескольких полимерных составляющих белковой и/или полисахаридной природы (Costerton, 1987; Lebeaux & Ghigo, 2012; Galié et al., 2018). Это приводит к некоторому снижению темпа нарастания микрофлоры в глубинных слоях микрофлоры, но одновременно блокирует негативное влияние внешних факторов, что резко повышает устойчивость биоплёнок по сравнению с планктонной формой (отдельными свободно живущими клетками этого же вида микроорганизмов).

Одним из наиболее распространённых методов борьбы с биоплёнками является обработка химическими дезинфектантами. Однако внеклеточный матрикс биоплёнок создаёт условия весьма ограниченного проникновения и диффузии активного агента вглубь, что фактически нивелирует

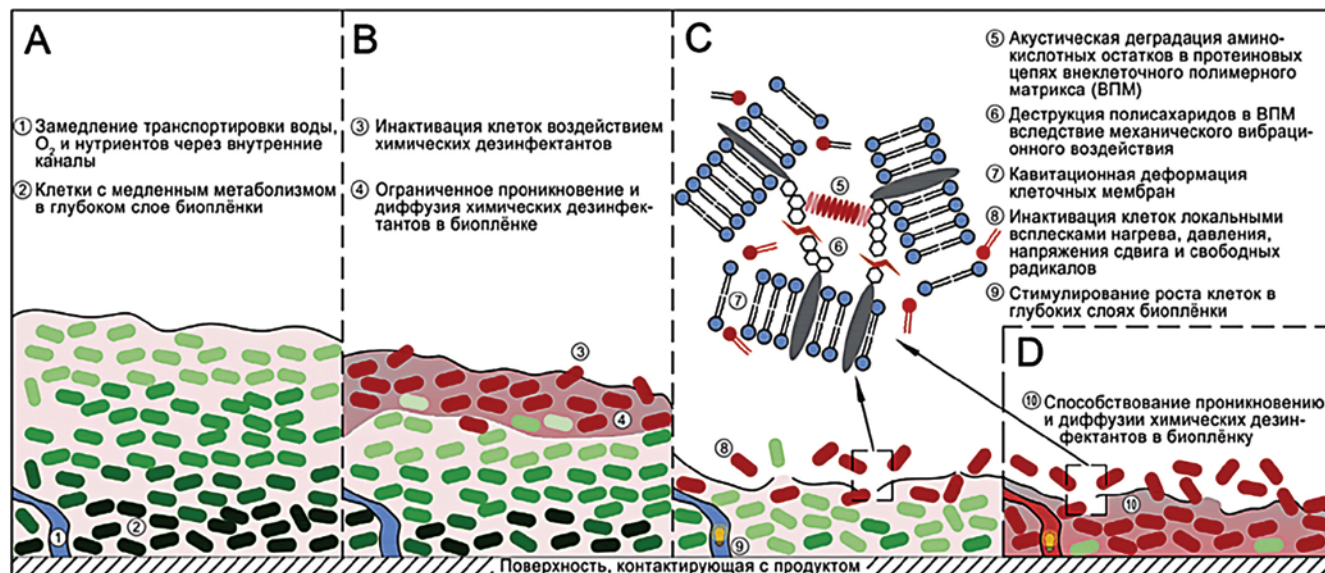
эффективность такого рода обработки (Yu et al., 2020). Попытки частичного механического разрушения структуры биоплёнок скребками практически не оказывает какого-либо значимого эффекта, за исключением механического повреждения обрабатываемых поверхностей.

В соответствии с существующими представлениями, борьбу с биоплёнками можно осуществлять двумя путями: нарушением ранних стадий — на этапе прикрепления планктонных клеток и образование микроколоний, либо разрушением внеклеточного биополимерного матрикса (Ильина & Романова, 2021). Первый путь представляется наиболее эффективным в силу первичной разрозненности бактериальных клеток и отсутствия внеклеточного матрикса. Потенциал эффективности практически гарантирован эффектом профилактики — борьбой с причиной возникновения биоплёнок, что всегда эффективнее борьбы со следствием. Однако у данного пути есть один, но весьма существенный недостаток — необходимость оперативного выявления очагов возникновения биоплёнок практически непосредственно перед самым началом их образования. Это упирается в необходимость наличия глубоких прогностических моделей, учитывающих огромное количество факторов, а также — системы непрерывного мониторинга по каждому из этих факторов. В настоящее время сколько-нибудь эффективное решение данной проблемы отсутствует, и остаётся только поиск методов разрушения внеклеточного матрикса. Nakonechny & Nisnevith (2021) и Vyas et al. (2019) показаны перспективы исследования деструктурирующего влияния ультразвуковой кавитационной обработки на уже сформировавшиеся биоплёнки. При этом для процесса в целом характерно отсутствие повреждения поверхностей-подложки.

При ультразвуковой обработке поверхностей с биоплёнками отдельные авторы отмечали не только разрушение внеклеточного матрикса, то также имело место некоторое снижение концентрации микроорганизмов (Vyas et al., 2019; Erriu et al., 2014). Предположительно это может быть связано с множественным локальным воздействием комплекса явлений, сопровождающих акустический кавитационный процесс: возникновение быстрых микропотоков и микроджетов с ударными волнами, провоцирует возникновение большого напряжения сдвига, приводящее к деформации и ча-

**Рисунок 10**

Структура биоплёнки (А) и предполагаемые механизмы влияния на неё химической (В), ультразвуковой (С) и комбинированной (D) обработки



Примечание. Из "Ultrasound-involved emerging strategies for controlling foodborne microbial biofilms," H. Yu, Y. Liu, L. Li, Y. Guo, Y. Xie, Y. Cheng, & W. Yao, 2020, *Trends in Food Science & Technology*, 96, с. 95 (<https://doi.org/10.1016/j.TIFS.2019.12.010>). Copyright 2020 by Elsevier Ltd.

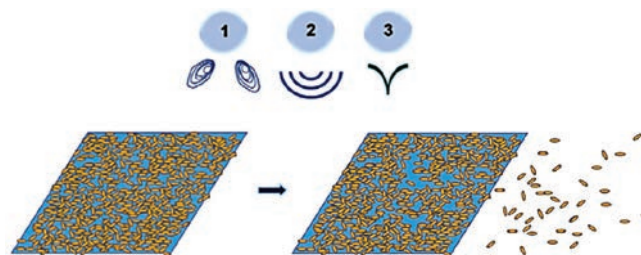
стичной деструкции матрикса и отдельных клеток. В результате, в условиях низкочастотной (до 100 кГц) и высокоинтенсивной (более 10 Вт/см<sup>2</sup>) обработки происходит физическое нарушение целостности и последующее разрушение клеток (Ильина & Романова, 2021). Кроме того, такая обработка может способствовать агрегации бактериальных флоккул, эффект влияния которой на микробные биоплёнки ещё до конца не изучен (Nakonechny & Nisnevith, 2021; Joyce et al., 2003). Сочетание ультразвуковой обработки с обработкой химическими дезинфектантами может способствовать синергическому антимикробному эффекту за счёт увеличения проникновения и диффузии дезинфектанта в глубинные слои биоплёнки вследствие нарушения целостности структуры внеклеточного матрикса в результате дезинтегрирующего кавитационного воздействия (Yu et al., 2020; Kirzhner et al., 2009; Kvich et al., 2022) (Рисунок 10).

Однако низкочастотное и низкоинтенсивное ( $\leq 2$  Вт/см<sup>2</sup>) ультразвуковое излучение вместо антимикробного действия, наоборот, может стимулировать метаболизм бактерий в глубинных слоях биоплёнок за счёт интенсификации транспорта кислорода и питательных веществ в более глубокие слои, что приводит к дальнейшему формированию более стабильной и прочной биоплёнки (Erriu et al., 2014).

В целом, процессы, происходящие с биоплёнками при их обработке ультразвуковым излучением, в настоящее время ещё далеки от полного понимания. Так, при обработке, вследствие разрушения биоплёнки, бактериальные клетки могут высвобождаться в окружающую среду в планктонной форме (Рисунок 11). При этом существует ненулевая вероятность их успешного выживания (Nakonechny & Nisnevith, 2021; Babushkina et al., 2022; Bigelow

**Рисунок 11**

Высвобождение планктонной микрофлоры в результате частичного разрушения биоплёнки при ультразвуковой обработке



Примечание. 1 — микропоток, 2 — ударные волны, 3 — микрожеты. Из "Different aspects of using ultrasound to combat microorganisms," F. Nakonechny, & M. Nisnevith, 2021, *Advanced Functional Materials*, 2011042, с. 2 (<https://doi.org/10.1002/adfm.202011042>). Copyright 2021 by Wiley-VCH GmbH.

et al., 2008; Bigelow et al., 2009; Bigelow et al., 2017; Wang et al., 2020).

В то же время в отношении вопроса эффективности практического применения ультразвуковой обработки для деструкции биоплёнок и инактивации микрофлоры, локализованных на обрабатываемых поверхностях, на наш взгляд, существует ещё одна — фатальная — проблема: для эффективного разрушения биоплёнок и бактериальных клеток в их составе необходим непосредственный контакт излучателя и объекта воздействия при посредничестве жидкообразной среды, обладающей сплошностью.

Необходимость погружения в жидкообразную среду представляется достаточно затруднительным в практической реализации при обработке оборудования пищевых производств, развитие биоплёнок на рабочих поверхностях которого и составляет основную проблему в пищевой и перерабатывающей промышленности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ключевым аспектом проявления антимикробного эффекта ультразвуковой обработки является коллапс образующихся в обрабатываемой среде локальных разрывов сплошности, приводящий к возникновению мощных микроструй, ударных волн, сонохимических процессов и локальных всплесков температуры. Частичная механическая деструкция клеточных оболочек микроорганизмов в комплексе с негативным влиянием агрессивных продуктов сонохимической трансформации среды могут приводить к повреждениям и гибели клеток. Вследствие особенностей строения и состава клеточных оболочек грамположительные микроорганизмы проявляют значительно большую устойчивость к ультразвуковой обработке. Проявление антимикробного эффекта может быть увеличено путём комбинирования процесса с давлением и термическим воздействием. Сочетание температуры и ультразвукового излучения позволяеткратно усилить эффект при сохранении относительно мягких условий обработки. Комбинация этих факторов с давлением приводит к выраженному проявлению синергического эффекта в начальный период обработки. Эффективность кавитационных процессов, вероятно, связана с тем, что они протекают не толь-

ко в среде, но и во внутриклеточном пространстве. Ультразвуковая обработка может приводить к повреждению оболочечных структур и принудительной гидратации споровой формы микроорганизмов. Ультразвуковая обработка может оказывать деструктурирующее влияние на биоплёнки. Высокоинтенсивное излучение может приводить к частичной деструкции внеклеточного матрикса, а в сочетании с низкой частотой — и к деструкции клеточных оболочек. Сочетание с высокой частотой приводит к увеличению проницаемости биоплёнок к компонентам среды, что увеличивает эффективность сопутствующей обработки антимикробными химическими агентами. Однако сочетание низкой интенсивности и частоты может, напротив, приводить к усиленному развитию биоплёнок и, как следствие, к ухудшению микробиологической безопасности. В разных исследованиях результаты влияния ультразвуковой обработки на проявление антимикробного эффекта показывают широкую вариативность и неоднозначность интерпретации, что предопределяет дальнейшее детальное изучение данной проблемы.

Основным ограничением проведённого исследования является рассмотрение влияния ультразвукового излучения на микроорганизмы в варианте как есть, без оценки того, создавались ли в каждом из множества рассмотренных работ условия для формирования коллапсирующей кавитации или нет. Вполне вероятно, что неоднозначность проявления деструктурирующего влияния ультразвуковой обработки на микробиальные клетки связана с наличием в одних случаях и отсутствием в других коллапсирующего эффекта. Таким образом, в дальнейших исследованиях следует принимать во внимание именно коллапсирующее кавитационное действие ультразвукового излучения с учётом многообразия внешних (условия обработки) и внутренних (физико-химические свойства среды, механические и буферные свойства клеток микроорганизмов и биоплёнок) факторов, а также интенсивности коллапсирующего процесса и насыщенности его в рабочем объёме. Результаты и обобщения данной работы могут стать вектором комплекса таких исследований для разработки энергоэффективных малоагрессивных подходов к обеспечению микробиологической безопасности пищевых систем.



## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Кондратенко Татьяна Юрьевна:** Проведение исследования - сбор данных; администрирование данных; валидация данных; формальный анализ; написание - подготовка черновика рукописи; редактирование рукописи.

**Кондратенко Владимир Владимирович:** Научное руководство исследованием; концептуализация; разработка методологии исследования; работа с программным обеспечением; визуализация/представление данных; создание рукописи и её редактирование.

**Курбанова Мадинат Насрудиновна:** Проведение исследования - сбор данных; администрирование данных; валидация данных; формальный анализ; написание - подготовка черновика рукописи; редактирование рукописи.

**Лях Владимир Алексеевич:** Научное руководство исследованием; концептуализация; разработка методологии исследования; работа с программным обеспечением; визуализация/представление данных; создание рукописи и её редактирование.

**Пацюк Любовь Карловна:** проведение исследования - сбор данных.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

- Аверина, Ю.М., Моисеева, Н.А., Шувалов, Д.А., Нырков, Н.П., & Курбатов А.Ю. (2018). Кавитационная обработка воды. Свойства воды и эффективность обработки. *Успехи в химии и химической технологии*, 32(14), 17–19.
- Averina, Yu.M., Moiseeva, N.A., Shuvalov, D.A., Nyrkov, N.P., & Kurbatov, A.Yu. (2018). Cavitation treatment of water. Properties of water and treatment efficiency. *Advances in Chemistry and Chemical Technology*, 32(14), 17–19. (In Russ.)
- Антушева Т.И. (2013). Некоторые особенности влияния ультразвука на микроорганизмы. *Живые и биокосные системы*, 4, 11.
- Antusheva, T.I. (2013). Some features of the influence of ultrasound on microorganisms. *Living and Biocosmic Systems*, 4, 11. (In Russ.)
- Герасимов Д.В., & Сучкова Е.П. (2014). Теоретические основы применения ультразвука для обработки пищевых систем с целью регулирования содержания биологически активных компонентов. *Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств*, 3, 53–60.
- Gerasimov, D.V., & Suchkova, E.P. (2014). Theoretical foundations of using ultrasound for the treatment of food systems to regulate the content of biologically active components. *Scientific Journal of ITMO University. Series: Processes and Apparatuses of Food Productions*, 3, 53–60. (In Russ.)
- Иванова, М.А., Демченко, В.А., Тамбулатова, Е.В., & Кравченко, Н.Н. (2019). Влияние ультразвуковых волн на качественные показатели концентрата морса. *Новые технологии*, 1, 69–77. <https://doi.org/10.24411/2072-0920-2019-10107>
- Ivanova, M.A., Demchenko, V.A., Tambulatova, E.V., & Kravchenko, N.N. (2019). The impact of ultrasonic waves on the quality indicators of sea buckthorn concentrate. *New Technologies*, 1, 69–77. (In Russ.) <https://doi.org/10.24411/2072-0920-2019-10107>
- Ильина, Т.С., & Романова, Ю.М. (2021). Бактериальные биоплёнки: Роль в хронических инфекционных процессах и поиск средств борьбы с ними. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*, 39(2), 14–24. <https://doi.org/10.17116/molgen20213902114>
- Ilina, T.S., & Romanova, Yu.M. (2021). Bacterial biofilms: Role in chronic infectious processes and search for means of combatting them. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 39(2), 14–24. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/molgen20213902114>
- Капустин, С.В., & Красуля, О.Н. (2016). Применение ультразвуковой кавитации в пищевой промышленности. *Интерактивная наука*, 2, 101–103.
- Kapustin, S.V., & Krasulya, O.N. (2016). The use of ultrasonic cavitation in the food industry. *Interactive Science*, 2, 101–103. (In Russ.)
- Красуля, О., Потороко, И., Кочубей-Литвиненко, О., & Мухаметдинова, А. (2015). Инновационные подходы в технологии молочных продуктов на основе эффектов кавитации. *Вестник Южно-Уральского государственного университета: Серия Пищевые и биотехнологии*, 3(2), 61–70.
- Krasulya, O., Potoroko, I., Kochubey-Litvinenko, O., & Mukhametdinova, A. (2015). Innovative approaches in dairy product technology based on cavitation effects. *Bulletin of the South Ural State University: Series Food and Biotechnology*, 3(2), 61–70. (In Russ.)
- Красуля, О.Н., Богуш, В.И., Мухаметдинова, А.К., Козырева, С.М., Кузнецова, Т.Г., Сергеев, А.И., & Потороко, И.Ю. (2016). Исследование изменений мясного сырья в посоле с использованием акустически активированного рассола. *Вестник Южно-Уральского государственного университета: Серия Пищевые и биотехнологии*, 4(2), 61–70. <https://doi.org/10.14529/food160208>
- Krasulya, O.N., Bogush, V.I., Mukhametdinova, A.K., Kozyreva, S.M., Kuznetsova, T.G., Sergeev, A.I., & Potoroko, I.Yu. (2016). Study of changes in meat raw materials in salting using acoustically activated brine. *Bulletin of the*

- South Ural State University: Series Food and Biotechnology, 4(2), 61–70. (In Russ.) <https://doi.org/10.14529/food160208>
- Кузьмичёв, А.В. (2016). Возможности применения ультразвука для обработки жидких пищевых продуктов. *Вестник ВИЭСХ*, 3(24), 38–47.
- Kuzmichev, A.V. (2016). Possibilities of using ultrasound for the treatment of liquid food products. *Bulletin of VIESH*, 3(24), 38–47. (In Russ.)
- Оботурова, Н.П., Судакова, Н.В., Кокоева, В.С., & Зайцев А.С. (2013). Применение экстрактов растительного сырья при производстве пищевых продуктов. *Пищевая промышленность*, 6, 48–50.
- Oboturova, N.P., Sudakova, N.V., Kokoyeva, V.S., & Zaitsev, A.S. (2013). The use of plant raw material extracts in food production. *Food Industry*, 6, 48–50. (In Russ.)
- Попова, Н.В., & Фатеева С.А. (2014). Изучение влияния ультразвукового воздействия на показатели качества воды. *Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии*, 2(1), 30–33.
- Popova, N.V., & Fateeva, S.A. (2014). Study of the influence of ultrasonic impact on water quality indicators. *Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology*, 2(1), 30–33. (In Russ.)
- Потороко, И.Ю., Фаткуллин, Р.И., & Цирульниченко, Л.А. (2013). Системный подход в технологии водоподготовки для пищевых производств. *Вестник Южно-Уральского государственного университета*, 7(3), 154–159.
- Potoroko, I.Yu., Fatkullin, R.I., & Tsiurlnichenko, L.A. (2013). A systemic approach in water treatment technology for food production. *Bulletin of the South Ural State University*, 7(3), 154–159. (In Russ.)
- Промтов М.А. (2008). Перспективы применения кавитационных технологий для интенсификации химико-технологических процессов. *Вестник Тамбовского государственного технического университета*, 14(4), 861–869.
- Promptov, M.A. (2008). Prospects for the application of cavitation technologies to intensify chemical and technological processes. *Bulletin of Tambov State Technical University*, 14(4), 861–869. (In Russ.)
- Промтов М.А., Алешин А.В., Колесникова М.М., & Карпов Д.С. (2015). Обеззараживание сточных вод кавитационной обработкой. *Вестник Тамбовского государственного технического университета*, 21(1), 105–111. <https://doi.org/10.17277/vestnik.2015.01.pp.105-111>
- Promptov, M.A., Aleshin, A.V., Kolesnikova, M.M., & Karpov, D.S. (2015). Disinfection of wastewater by cavitation treatment. *Bulletin of Tambov State Technical University*, 21(1), 105–111. (In Russ.) <https://doi.org/10.17277/vestnik.2015.01.pp.105-111>
- Тихомирова, Н.А., Ашоккумар, М., Красуля, О.Н., Шестаков, С.Д., & Богуш, В.И. (2011). Sonoхимическая обработка молочных продуктов. *Переработка молока*, 8(142), 40–43.
- Tikhomirova, N.A., Ashokkumar, M., Krasulya, O.N., Shestakov, S.D., & Bogush, V.I. (2011). Sonochemical processing of dairy products. *Milk Processing*, 8(142), 40–43. (In Russ.)
- Федосенко, Т.В., Кондратенко, Т.Ю., & Кондратенко, В.В. (2022). Особенности применения ультразвуковой кавитации для обработки жидкообразных сред. *Всё о мясе*, 5, 38–40. <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2022-5-38-45>
- Fedosenko, T.V., Kondratenko, T.Yu., & Kondratenko, V.V. (2022). Features of using ultrasonic cavitation for processing liquid media. *All About Meat*, 5, 38–40. (In Russ.) <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2022-5-38-45>
- Шестаков, С.Д., Красуля, О.Н., Артемова, Я.А., & Тихомирова, Н.А. (2011). Ультразвуковая сонохимическая водоподготовка. *Молочная промышленность*, 5, 39–43.
- Shestakov, S.D., Krasulya, O.N., Artemova, YA., & Tikhomirova, N.A. (2011). Ultrasonic sonochemical water treatment. *Dairy Industry*, 5, 39–43. (In Russ.)
- Aadil, R.M., Zeng, X.-A., Han, Zh., Sahar, A., Khalil, A.A., Rahman, U.U., Khan, M., & Mehmood T. (2018). Combined effects of pulsed electric field and ultrasound on bioactive compounds and microbial quality of grapefruit juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), e13507. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13507>
- Abesinghe, A.M., Islam, N.L., Vidanarachchi, N., Prakash, J.K., Silva, S., & Karim M.A. (2019). Effects of ultrasound on the fermentation profile of fermented milk products incorporated with lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 90, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.10.006>
- Adekunte, A., Tiwari, B.K., Scannell, A., Cullen, P.J., & O'Donnell, C. (2010). Modelling of yeast inactivation in sonicated tomato juice. *International Journal of Food Microbiology*, 137(1), 116–120. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.006>
- Álvarez, I., Mañas, P., Sala, F.J., & Condón S. (2003). Inactivation of Salmonella enterica serovar enteritidis by ultrasonic waves under pressure at different water activities. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1), 668–672. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.69.1.668-672.2003>
- Ansari, J.A., Ismail, M., & Farid, M. (2017). Investigation of the use of ultrasonication followed by heat for spore inactivation. *Food and Bioproducts Processing*, 104, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.04.005>
- Babushkina, I.V., Mamonova, I.A., Ulyanov, V.Y., & Shpinyak, S.P. (2022). Combined Effect of Ceftriaxon and Low-Frequency Ultrasound on the Viability of Staphylococcus epidermidis Cells in a Preformed Biofilm. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 174, 47–50. <https://doi.org/10.1007/s10517-022-05646-5>
- Bastarrachea, L.J., Walsh, M., Wrenn, S.P., & Tikekar, R.V. (2017). Enhanced antimicrobial effect of ultrasound by the food colorant Erythrosin B. *Food Research International*, 100(1), 344–351. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.012>
- Bermúdez-Aguirre, D., & Barbosa-Cánovas, G.V. (2012). Inactivation of Saccharomyces cerevisiae in pineapple, grape and cranberry juices under pulsed and continuous thermo-sonication treatments. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 383–392. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.06.038>

- Bermúdez-Aguirre, D., Corradini, M.G., Mawson, R., & Barbosa-Canovas, G.V. (2009b). Modeling the inactivation of *Listeria innocua* in raw whole milk treated under thermo-sonication. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(2), 172–178. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.11.005>
- Bermúdez-Aguirre, D., Mawson, R., Versteeg, K., & Barbosa-Canovas, G.V. (2009a). Composition properties, physicochemical characteristics and shelf life of whole milk after thermal and thermo-sonication treatments. *Journal of Food Quality*, 32(3), 283–302. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2009.00250.x>
- Bigelow, T.A., Northagen, T., Hill, T.M., & Sailer F.C. (2009). The destruction of *Escherichia coli* biofilms using high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 35(6), 1026–1031. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2008.12.001>
- Bigelow, T.A., Northagen, T., Hill, T.M., & Sailer, F.C. (2008). Ultrasound histotripsy and the destruction of *Escherichia coli* biofilms. 30th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (pp. 4467–4470). Vancouver: IEEE. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2008.4650203>
- Bigelow, T.A., Thomas, C.L., Wu, H., & Itani K.M.F. (2017). Histotripsy treatment of *S. aureus* biofilms on surgical mesh samples under varying pulse durations. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 64(10), 1420–1428. <https://doi.org/10.1109/TUFFC.2017.2718841>
- Butz, P., & Tauscher, B. (2002). Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International*, 35(2–3), 279–284. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00197-1)
- Cabeza, M.C., Cárcel, J.A., Ordóñez, J.A., Cambero, I., De la Hoz, L., Garcia, M.L., & Benedito, J. (2010). Relationships among selected variables affecting the resistance of *Salmonella enterica*, serovar Enteritidis to thermosonication. *Journal of Food Engineering*, 98(1), 71–75. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.12.009>
- Cameron, M. (2007). Impact of low-frequency high-power ultrasound on spoilage and potentially pathogenic dairy microbes. Dissertation for the degree of Ph.D. in Food Science. Stellenbosch: University of Stellenbosch.
- Cameron, M., McMaster, L.D., & Britz, T.J. (2008). Electron microscopic analysis of dairy microbes inactivated by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(6), 960–964. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2008.02.012>
- Capocelli, M., Prisciandaro, M., Lancia, A., & Musmarra, D. (2014). Comparison Between Hydrodynamic and Acoustic Cavitation in Microbial Cell Disruption. *Chemical Engineering Transactions*, 38, 13–18. <https://doi.org/10.3303/CET1438003>
- Cárcel, J.A., García-Pérez, J.V., Benedito, J., & Mulet A. (2012). Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.05.038>
- Carrascosa, C., Raheem, D., Ramos, F., Saraiva, A., & Raposo, A. (2021). Microbial biofilms in the food industry – A comprehensive review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(4), 2014. <https://doi.org/10.3390/ijerph18042014>
- Carrillo-Lopez, L.M., Alarcon-Rojo, A.D., Luna-Rodriguez, L., & Reyes-Villagrana R. (2017). Modification of food systems by ultrasound. *Journal of Food Quality*, Article ID 5794931. <https://doi.org/10.1155/2017/5794931>
- Carstensen, E.L. (1986). Biological effects of acoustic cavitation. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 12(9), 703–704. [https://doi.org/10.1016/0301-5629\(86\)90287-5](https://doi.org/10.1016/0301-5629(86)90287-5)
- Char, C.D., Mitilinaki, E., Guerrero, S.N., & Alzamora, S.M. (2010). Use of high-intensity ultrasound and UV-C light to inactivate some microorganisms in fruit juices. *Food and Bioprocess Technology*, 3(6), 797–803. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0307-7>
- Chemat, F., Zill, E.H., & Khan, M.K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813–835. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>
- Costerton, J.W., Cheng, K.J., Geesey, G.G., Ladd, T.I., Nickel, J.C., Dasgupta, M., & Marrie, T.J. (1987). Bacterial Biofilms in Nature and Disease. *Annual Review of Microbiology*, 41, 435–464. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.41.100187.002251>
- Czank, C., Simmer K., & Hartmann P.E. (2010). Simultaneous pasteurization and homogenization of human milk by combining heat and ultrasound: effect on milk quality. *Journal of Dairy Research*, 77(2), 183–189. <https://doi.org/10.1017/S0022029909990483>
- D’amico, D.J., Silk, T.M., Wu, J.R., & Guo, M.R. (2006). Inactivation of microorganisms in milk and apple cider treated with ultrasounds. *Journal of Food Protection*, 69(3), 556–563. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.3.556>
- Dubrovi, I., Herceg, Z., Jambrak, A.R., Badanjak, M., & Dragović-Uzelac, V. (2011). Effect of Ultrasound and pasteurization on anthocyanins. *Food Technology and Biotechnology*, 49(2), 196–204.
- Eliseev, M.I., Fatykhov, J.A., & Lyudkevich, T. (2017). Determining the optimum cavitation mode for disinfection of cheese whey. *Proceedings of the Kaliningrad State Technical University*, 45, 160–169.
- Erriu, M., Blus, C., Szmukler-Moncler, S., Buogo, S., Levi, R., Barbato, G., Madonnaripa, D., Denotti, G., Piras, V., & Orrù, G. (2014). Microbial biofilm modulation by ultrasound: Current concepts and controversies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1), 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.05.011>
- Evelyn, E., & Silva, F.V.M. (2015). Use of power ultrasound to enhance the thermal inactivation of *Clostridium perfringens* spores in beef slurry. *International Journal of Food Microbiology*, 206, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.013>
- Filonenko, E.A., & Khokhlova, V.A. (1999). Modeling the thermal processes occurring in biological tissues exposed to focused ultrasound. *Moscow University Physics Bulletin*, 54(6), 36–40.
- Galié, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E.M., Villar, C.J., & Lombó, F. (2018). Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiology*, 9, 898. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00898>



- Ganesan, B., Martini, S., Solorio, J., & Marie, K.W. (2015). Determining the effects of high intensity ultrasound on the reduction of microbes in milk and orange juice. Using response surface methodology. *International Journal of Food Science*, Article ID 350719. <https://doi.org/10.1155/2015/350719>
- Gao, S., Lewis, G.D., Ashokkumar, M., & Hemar, Y. (2014a). Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power ultrasound: 1. Effect of growth phase and capsule properties of the bacteria. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1), 446–453. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.06.006>
- Gao, S., Lewis, G.D., Ashokkumar, M., & Hemar, Y. (2014b). Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power ultrasound: 2. A simple model for the inactivation mechanism. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1), 454–460. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.06.007>
- Gera, N., & Doores, S. (2011). Kinetics and mechanism of bacterial inactivation by ultrasound waves and sonoprotective effect of milk components. *Journal of Food Science*, 76(2), M111–M119. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02007.x>
- Guo, L., Zhang, X., Xu, L., Li, Y., Pang, B., Sun, J., Wang, B., Huang, M., Xu, X., & Ho, H. (2021). Efficacy and Mechanism of Ultrasound Combined with Slightly Acidic Electrolyzed Water for Inactivating *Escherichia coli*. *Journal of Food Quality*, Article ID 6689751. <https://doi.org/10.1155/2021/6689751>
- Harvey, E., & Loomis, A. (1928). High frequency sound waves of small intensity and their biological effects. *Nature*, 121, 622–624. <https://doi.org/10.1038/121622a0>
- Harvey, E., & Loomis, A. (1929). The destruction of luminous bacteria by high frequency sound waves. *Journal of Bacteriology*, 17(5), 373–376. <https://doi.org/10.1128/jb.17.5.373-376.1929>
- Hawrylik, E. (2019). Ultrasonic Disintegration of Bacteria Contained in Treated Wastewater. *Journal of Ecological Engineering*, 20, 171–176. <https://doi.org/10.12911/22998993/112493>
- He, Q., Liu, D., Ashokkumar, M., Ye, X., Jin, T.Z., & Guo, M. (2021). Antibacterial mechanism of ultrasound against *Escherichia coli*: Alterations in membrane microstructures and properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105509. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105509>
- Huang, G., Chen, S., Dai, Ch., Sun, L., Sun, W., Tang, Y., Yiong, F., He, R., & Ma, H. (2017). Effects of ultrasound on microbial growth and enzyme activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.12.018>
- Hunter, G., Lucas, M., Watson, I., & Parton, R. (2008). A radial mode ultrasonic horn for the inactivation of *Escherichia coli* K12. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(2), 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2006.12.017>
- Inguglia, E.S., Tiwari, B.K., Kerry, J.P., & Burgess, C.M. (2018). Effects of high intensity ultrasound on the inactivation profiles of *Escherichia coli* K12 and *Listeria innocua* with salt and salt replacers. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 492–498. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.05.007>
- Joyce, E., Al-Hashimi, A., & Mason T.J. (2011). Assessing the effect of different ultrasonic frequencies on bacterial viability using flow cytometry. *Journal of Applied Microbiology*, 110(4), 862–870. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04923.x>
- Joyce, E., Phull, S.S., Lorimer, J.P., & Mason, T.J. (2003). The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions. A study of frequency, power and sonication time on cultured *Bacillus* species. *Ultrasonics Sonochemistry*, 10(6), 315–318. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(03\)00101-9](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(03)00101-9)
- Kiang, W.S., Bhat, R., Rosma, A., & Cheng, L.H. (2013). Effects of thermosonication on the fate of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enteritidis* in mango juice. *Letters in Applied Microbiology*, 56(4), 251–257. <https://doi.org/10.1111/lam.12042>
- Kirzhner, F., Zimmels, Y., Malkovskaja, A., & Starosvetsky, J. (2009). Removal of microbial biofilm on Water Hyacinth plants roots by ultrasonic treatment. *Ultrasonics*, 49(2), 153–158. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2008.09.004>
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., & Lee D.-U. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology*, 15(5), 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.001>
- Koda, S., Miyamoto, M., Toma, M., Matsuoka, T., & Maebayashi, M. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans* by ultrasound at 500 kHz. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(5), 655–659. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.02.003>
- Kvich, L., Christensen, M.H., Pierchala, M.K., Astafiev, K., Lou-Moeller, R., & Bjarnsholt, T. (2022). The Combination of Low-Frequency Ultrasound and Antibiotics Improves the Killing of In Vitro *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Antibiotics*, 11, 1494. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111494>
- Lattwein, K.R., Shekhar, H., Kouijzer, J.J.P., Van Wamel, W.J.B., Holland, C.K., & Kooiman, K. (2020). Sono bactericide: An Emerging Treatment Strategy for Bacterial Infections. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 46(2), 193–215. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2019.09.011>
- Lebeaux, D., & Ghigo, J.-M. (2012). Infections associées aux biofilms — Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale? (Biofilm-related infections — What therapeutic perspectives are offered by basic research?). *Medecine Sciences*, 28(8–9), 727–739. <https://doi.org/10.1051/medsci/2012288015>
- Lee, H., Kim, H., Cadwallader, K.R., Feng, H., & Martin, S.E. (2013). Sonication in combination with heat and low pressure as an alternative pasteurization treatment-effect on *Escherichia coli* k12 inactivation and quality of Apple cider. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(4), 1131–1138. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.003>
- Lee, H., Zhou, B., Liang, W., Feng, H., & Martin, S.E. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* cells with sonication, manosonication, thermosonication, and manothermosonication: Microbial responses and kinetics modeling. *Journal of Food Engineering*, 93(3), 354–364. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.01.037>



- Leong, Th., Ashokkumar, M., & Kentish, S. (2011). The fundamentals of power ultrasound — A review. *Acoustics Australia*, 39(2), 54–63.
- Li, J., Ahn, J., Liu, D., Chen, S., Ye, X., & Ding, T. (2016). Evaluation of ultrasound induced damage to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by flow cytometry and transmission electron microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(6), 1828–1837. <https://doi.org/10.1128/AEM.03080-15>
- Li, J., Suo, Y., Liao, X., Ahn, J., Liu, D., Chen, Sh., Ye, X., & Ding, T. (2017). Analysis of *Staphylococcus aureus* cell viability, sublethal injury and death induced by synergistic combination of ultrasound and mild heat. *Ultrasonics Sonochemistry*, 39, 101–110. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.04.019>
- Li, Y., Li, X., Hao, Y., Liu, Y., Dong, Z., & Li, K. (2021). Biological and physiochemical methods of biofilm adhesion resistance control of medical-context surface. *International Journal of Biological Sciences*, 17(7), 1769–1781. <https://doi.org/10.7150/ijbs.59025>
- Liao, H. (2022). Response of food-borne pathogens to ultrasound. In Ding, T., Liao, X., Feng, J. (Eds.), *Stress responses of foodborne pathogens* (pp. 179–219). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-90578-1\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-030-90578-1_7)
- Liao, X., Li, J., Suo, Y., Chen, Sh., Ye, X., Liu, D., & Ding, T. (2018). Multiple action sites of ultrasound on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Science and Human Wellness*, 7(1), 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.01.002>
- Lv, R., Zou, M., Chantapakul, T., Chen, W., Muhammad, A.I., Zhou, J., Ding, T., Ye, X., & Liu, D. (2019). Effect of ultrasonication and thermal and pressure treatments, individually and combined, on inactivation of *Bacillus cereus* spores. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(5), 2329–2338. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9559-3>
- Majid, I., Nayik, G.A., & Nanda, V. (2015). Ultrasonication and food technology: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1071022. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1071022>
- Milani, E.A., & Silva F.V.M. (2017). Ultrasound assisted thermal pasteurization of beers with different alcohol levels: inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* ascospores. *Journal of Food Engineering*, 198, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.11.015>
- Muñoz, A., Palgan, I., & Noci, F. (2011). Combinations of high intensity light pulses and thermosonation for the inactivation of *Escherichia coli* in orange juice. *Food Microbiology*, 28(6), 1200–1204. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.04.005>
- Nakonechny, F., & Nisnevith, M. (2021). Different aspects of using ultrasound to combat microorganisms. *Advanced Functional Materials*, 2011042. <https://doi.org/10.1002/adfm.202011042>
- Nishiguchi, K., Hashimoto, Y., & Yamamoto, K. (2021). Inactivation of Bacteria and Fungus by Ultrasonic Cavitation. *Japanese Journal of Multiphase Flow*, 35(1), 11–18. <https://doi.org/10.3811/jjmf.2021.T002>
- Onyeaka, H., Miri, T., Hart, A., Anumudu, C., & Nwabor, O.F. (2021). Application of ultrasound technology in food processing with emphasis on bacterial spores. *Food Reviews International*, 1–13. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.2013255>
- Paniwnyk, L. (2016). Applications of ultrasound in processing of liquid foods: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 794–806. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.12.025>
- Piyasena, P., Mohareb, E., & McKellar, R.C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 87(3), 207–216. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00075-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00075-8)
- Ramteke, S.P., Desale, R.J., Kankhare, D.H., & Fulpagare, Y.G. (2020). Thermosonation Technology in the Dairy Industry: A Review. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 7(1), 82–89.
- Rani, M., Sood, M., Bandral, J.D., Bhat, A., & Gupta, I. (2020). Thermosonation technology and its application in the food industry. *International Journal of Chemical Studies*, 8(3), 922–928. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i3l.9317>
- Raso, J., & Barbosa-Canovas G.V. (2003). Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(3), 265–285. <https://doi.org/10.1080/10408690390826527>
- Raso, J., Pagán, R., Condón, S., & Sala, F.J. (1998). Influence of Temperature and Pressure on the Lethality of Ultrasound. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(2), 465–471. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.2.465-471.1998>
- Runyan, C.M., Carmen, J.C., Beckstead, B.L., Nelson, J.L., Robison, R.A., & Pitt, W.G. (2006). Low-frequency ultrasound increases outer membrane permeability of *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 52(5), 295–301. <https://doi.org/10.2323/jgam.52.295>
- Sambeoro, P., Fitriyanti, M., Budiman, B.A., Kamarisima, K., Baliwangi, S.W.A., Alverian, C., Bagherzadeh, S., Narsimhan, G., Aditiawati, P., & Nurprasetyo, I.P. (2021). Bacterial cell inactivation using a single-frequency batch-type ultrasound device. *Indonesian Journal of Science & Technology*, 6(1), 65–80. <https://doi.org/10.17509/ijost.v6i1.31516>
- Scherba, G., Weigel, R.M., & O'Brien Jr., W.D. (1991). Quantitative assessment of the germicidal efficacy of ultrasonic energy. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(7), 2079–2084. <https://doi.org/10.1128/aem.57.7.2079-2084.1991>
- Shen, Y., Zhu, D., Xi, P., Cai, T., Cao, X., Liu, H., & Li, J. (2021). Effects of temperature-controlled ultrasound treatment on sensory properties, physical characteristics and antioxidant activity of cloudy apple juice. *LWT*, 142, 111030. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111030>
- Starek, A., Kobus, Z., Sagan, A., Chudik, B., Pawłat, J., Kwiatkowski, M., Terebun, P., & Dariusz, A. (2021). Influence of ultrasound on selected microorganisms, chemical and structural changes in fresh tomato juice. *Scientific Reports*, 11, 3488. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83073-8>
- Sun, J., Wang, D., Sun, Zh., Liu, F., Du, L., & Wang, D. (2021). The combination of ultrasound and chlorogenic acid to inactivate *Staphylococcus aureus* under planktonic, biofilm, and food systems. *Ultrasonics Sonochemistry*, 80, 105801. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105801>

- Tandiono, T., Siak-Wei Ow, D., Driessen, L., Sze-Hui Chin, C., Klaseboer, E., Boon-Hwa Choo, A., Ohl, S.-W., & Ohl C.-D. (2012). Sonolysis of *Escherichia coli* and *Pichia pastoris* in microfluidics. *Lab on a Chip*, 12, 780–786. <https://doi.org/10.1039/C2LC20861J>
- Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Patras, A., & Cullen, P.J. (2008). Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 10071–10077. <https://doi.org/10.1021/jf801824v>
- Ugare-Romero, E., Feng, H., & Martin, S.E. (2007). Inactivation of *Shigella boydii* 18 IDPH and *Listeria monocytogenes* Scott A with power ultrasound at different acoustic energy densities and temperatures. *Journal of Food Science*, 72(4), 103–107. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00340.x>
- Valero, M., Recrosio, N., Saura, D., Munoz, N., Martic, N., & Lizama, V. (2007). Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering*, 80(2), 509–516. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.06.009>
- Vyas, N., Manmi, K., Wang, Q., Jadhav, A.J., Barigou, M., Sammons, R.L., Kuehne, S.A., & Walmsley A.D. (2019). Which Parameters Affect Biofilm Removal with Acoustic Cavitation? A Review. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 45(5), 1044–1055. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2019.01.002>
- Wang, T., Ma, W., Jiang, Z., & Bi L. (2020). The penetration effect of HMME-mediated low-frequency and low-intensity ultrasound against the *Staphylococcus aureus* bacterial biofilm. *European Journal of Medical Research*, 25, 51. <https://doi.org/10.1186/s40001-020-00452-z>
- Wood, R.W., & Loomis, A.L. (1927). XXXVIII The physical and biological effects of high-frequency sound-waves of great intensity. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science, Series 7*; 4(22), 417–436. <https://doi.org/10.1080/14786440908564348>
- Yu, H., Liu, Y., Li, L., Guo, Y., Xie, Y., Cheng, Y., & Yao, W. (2020). Ultrasound-involved emerging strategies for controlling foodborne microbial biofilms. *Trends in Food Science & Technology*, 96, 91–101. <https://doi.org/10.1016/j.TIFS.2019.12.010>
- Yusaf, T., & Al-Juboori, R.A. (2014). Alternative methods of microorganism disruption for agricultural applications. *Applied Energy*, 114, 909–923. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.08.085>
- Yusof, N.S.M., Babgi, B., Alghamdi, Y., Aksu, M., Madhavan, J., & Ashokkumar, M. (2016). Physical and chemical effects of acoustic cavitation in selected ultrasonic cleaning applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, 29, 568–576. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.013>
- Zhu, T., Yang, Ch., Bao, X., Chen, F., & Guo X. (2022). Strategies for controlling biofilm formation in food industry. *Grain & Oil Science and Technology*, 5(4), 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2022.06.003>
- Zou, Y., & Jiang, A. (2016). Effect of ultrasound treatment on quality and microbial load of carrot juice. *Food Science and Technology, Campinas*, 36(1), 111–115. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.0061>
- Zupanc, M., Pandur, Ž., Perdih, T.S., Stopar, D., Petkovšek, M., & Dular, M. (2019). Effects of cavitation on different microorganisms. The current understanding of the mechanisms taking place behind the phenomenon. A review and proposals for further research. *Ultrasonics Sonochemistry*, 57, 147–165. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.009>

# Ризобактерии для снижения биотического стресса яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), вызванного фитопатогенными грибами

Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Российская Федерация

## КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Людмила Константиновна Асякина  
E-mail: alk\_kem@mail.ru

## ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

## ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Серазетдинова, Ю.Р., Фотина, Н.В., Асякина, Л.К., Милентьева, И.С., & Просеков, А.Ю. (2023). Ризобактерии для снижения биотического стресса яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), вызванного фитопатогенными грибами. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 98–113. <https://doi.org/10.36107/spfr.2023.4.515>

ПОСТУПИЛА: 02.07.2023

ПРИНЯТА: 15.12.2023

ОПУБЛИКОВАНА: 30.12.2023

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания «Фундаментальные исследования по разработке биопестицидов, состоящих из экстремофильных и эндофитных микроорганизмов, для преодоления абиотического и биотического стресса сельскохозяйственными культурами в условиях Кемеровской области-Кузбасса» (шифр FZSR-2023-0003)

Ю. Р. Серазетдинова, Н. В. Фотина, Л. К. Асякина, И. С. Милентьева, А. Ю. Просеков

## АННОТАЦИЯ

**Введение:** Урожайность пшеницы в значительной степени зависит от фитопатогенной нагрузки почв и семенного материала. В сложных климатических условиях Кузбасса актуален поиск биологических средств защиты пшеницы для обеспечения продовольственной безопасности региона.

**Цель исследования** — оценить ростостимулирующие свойства и антагонистическую активность бактериальных изолятов ризосферы пшеницы, и отобрать перспективные варианты для создания коммерческих препаратов биофунгицидной направленности.

**Материалы и методы:** Для выделения перспективных штаммов ризобактерий использовали последовательное культивирование ризосферы пшеницы на безазотистой питательной среде, на среде с труднорастворимым соединением фосфора и на среде с низким содержанием питательных элементов. Для отбора репрезентативных изолятов исследовали индекс всхожести семян; способность к фиксации азота и солюбилизации фосфора. Для изолятов, характеризующихся высокой активностью, исследовали способность синтезировать фитогормоны спектрофотометрическим методом и антагонистическую активность в отношении фитопатогенов методом агаровых блоков. Идентификацию перспективных ризобактерий осуществляли по биохимическим признакам. Исследование влияния бактериальных изолятов на рост и развитие пшеницы в условиях биотического стресса осуществляли согласно общепринятым методикам.

**Результаты:** В ходе исследования выделили 17 изолятов, 2 из которых характеризовались максимальной активностью по ростостимулирующим и антагонистическим показателям. Биохимическая идентификация показала, что ими являлись *Bacillus velezensis* и *Pantoea ananatis*. Для *Bacillus velezensis* характерны следующие ростостимулирующие свойства: фиксация азота (850 мкг/мл), солюбилизация фосфора (1,60 см), индекс всхожести (1,26), синтез индолил-3-уксусной кислоты (8,16 мг/мл), гиббереллиновой кислоты (366,90 мкг/мл) и кинетина (11,86 мкг/мл). Штамм *Pantoea ananatis* проявлял следующие ростостимулирующие свойства: фиксация азота (80 мкг/мл), солюбилизация фосфора (2,00 см), индекс всхожести (1,19), синтез индолил-3-уксусной кислоты (9,00 мг/мл), гиббереллиновой кислоты (346,20 мкг/мл) и кинетина (6,28 мкг/мл). Штаммы обладали высокой антагонистической активностью в отношении фитопатогенных грибов *Fusarium graminearum* F-877, *Botrytis cinerea* F-1006, *Bipolaris sorokiniana* F-529. Испытания штаммов на зараженных фитопатогенами семенах пшеницы показали, что они успешно снижают биотический стресс растений.

**Выводы:** Перспективно дальнейшее использование штаммов в качестве агентов биологического контроля для разработки комплексных препаратов, направленных на улучшение питания пшеницы.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

*Fusarium graminearum*; *Botrytis cinerea*; *Bipolaris sorokiniana*; фитогормоны; стимулирующие рост растений бактерии; антагонистическая активность; Кузбасс



# Rhizobacteria for Reducing Biotic Stress in Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.) Caused by Phytopathogenic Fungi

Kemerovo State University, Kemerovo,  
Russian Federation

Yuliya R. Serazetdinova, Natalya V. Fotina, Lyudmila K. Asyakina,  
Irina S. Milentyeva, Alexander Yu. Prosekov

## CORRESPONDENCE:

Lyudmila Konstantinovna Asyakina

E-mail: v\_kondratenko@vnimi.org

## DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

## FOR CITATIONS:

Serazetdinova, Yu.R., Fotina, N.V., Asyakina, L.K., Milentyeva, I.S., & Prosekov, A.Yu. (2023). Rhizobacteria for reducing biotic stress in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) caused by Phytopathogenic Fungi. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 98–113. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.515>

RECEIVED: 02.07.2023

ACCEPTED: 15.12.2023

PUBLISHED: 30.12.2023

## DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.

## FUNDING

The research was carried out within the framework of the state assignment "Fundamental research on the development of biopesticides consisting of extremophilic and endophytic microorganisms, to overcome abiotic and biotic stress in agricultural crops in the conditions of the Kemerovo region-Kuzbass" (code FZSR-2023-0003).



## ABSTRACT

**Introduction:** Wheat is an important agricultural crop. Its yield largely depends on the phytopathogenic load of soils and seed material. In the difficult climatic conditions of Kuzbass, the search for biological means of protecting wheat is relevant to ensure food security in the region.

**Purpose** of the study is to evaluate the growth-stimulating properties and antagonistic activity of bacterial isolates of the wheat rhizosphere, and to select promising options for the creation of commercial biofungicidal preparations.

**Materials and Methods:** To isolate promising strains of rhizobacteria, we used sequential cultivation of the wheat rhizosphere on a nitrogen-free nutrient medium, on a medium with a sparingly soluble phosphorus compound, and on a medium with a low content of nutrients. To select representative isolates, the seed germination index was examined; ability to fix nitrogen and solubilize phosphorus. For isolates characterized by high activity, the ability to synthesize phytohormones was studied using the spectrophotometric method and antagonistic activity against phytopathogens using the agar block method. Identification of promising rhizobacteria was carried out based on biochemical characteristics. The study of the effect of bacterial isolates on the growth and development of wheat under biotic stress conditions was carried out according to generally accepted methods.

**Results:** During the study, 17 isolates were isolated, 2 of which were characterized by maximum activity in terms of growth-stimulating and antagonistic indicators. Biochemical identification showed that they were *Bacillus velezensis* and *Pantoea ananatis*. *Bacillus velezensis* is characterized by the following growth-stimulating properties: nitrogen fixation (850 µg/ml), phosphorus solubilization (1.60 cm), germination index (1.26), synthesis of indolyl-3-acetic acid (8.16 mg/ml), gibberellic acid (366.90 µg/ml) and kinetin (11.86 µg/ml). The *Pantoea ananatis* strain exhibited the following growth-stimulating properties: nitrogen fixation (80 µg/ml), phosphorus solubilization (2.00 cm), germination index (1.19), synthesis of indolyl-3-acetic acid (9.00 mg/ml), gibberellic acid (346.20 µg/ml) and kinetin (6.28 µg/ml). The strains had high antagonistic activity against the phytopathogenic fungi *Fusarium graminearum* F-877, *Botrytis cinerea* F-1006, *Bipolaris sorokiniana* F-529. Testing of the strains on wheat seeds infected with phytopathogens showed that they successfully reduce plant biotic stress.

**Conclusions:** The further use of strains as biological control agents for the development of complex preparations aimed at improving wheat nutrition is promising.

## KEYWORDS

*Fusarium graminearum*; *Botrytis cinerea*; *Bipolaris sorokiniana*; phytohormones; plant growth stimulating bacteria; antagonistic activity; Kuzbass



## ВВЕДЕНИЕ

Пшеница (*Triticum* spp.) является стратегически важным культурным растением, принадлежащим к семейству *Poaceae*. Среди возделываемых зерновых культур она занимает лидирующие позиции в современном мировом земледелии по посевным площадям (более 218 миллионов га) (Giraldo et al., 2019). Популярность культуры связана с высокой пищевой и биологической ценностью. Известно, что пшеница богата углеводами, белками, минеральными веществами, жирами и витаминами (Carcea, 2020).

В Кузбассе пшеница занимает лидирующее место в обеспечении продовольственной безопасности, и является наиболее часто возделываемой зерновой культурой. Однако сложные климатические условия региона повышают подверженность растений инфекционным заболеваниям, способствуют снижению урожайности и качества зерна (Плотников & Латкова, 2020). Наибольший урон качеству и количеству урожая наносят фитопатогены грибной природы, в особенности представители рода *Fusarium*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Botrytis* и *Drechslera* (El-Gremi et al., 2017). Для снижения негативного воздействия фитопатогенов на растения наиболее часто применяют вещества химической природы, что приводит к проблемам для окружающей среды и здоровья, а также к развитию резистентности к фунгицидам (Brauer et al., 2019). Использование ризобактерий является одним из альтернативных методов эффективной и безопасной борьбы с фитопатогенами (Parashar et al., 2023).

Ризобактерии, стимулирующие рост растений, представляют собой свободноживущие почвенные бактерии, которые обладают способностью колонизировать ризосферу и/или поверхность корней растений и улучшать их рост и урожайность (Ranadev et al., 2019). В основном это происходит за счет высвобождения метаболитов, обладающих ростостимулирующими свойствами (Фасхутдинова с соавт., 2023). Механизмы положительного влияния ризобактерий в отношении растений включают:

- (1) синтез фитогормонов, таких как индол-3-уксусная кислота (ИУК), гиббереллины и цитокинины (Husna et al., 2023; Martynenko et al., 2022);

- (2) фиксацию азота  $N_2$  или усиление ассимибиотической фиксации (Khumairah et al., 2020; Nining et al., 2021; Renoud et al., 2020);
- (3) солюбилизацию неорганических соединений (Batool & Iqbal, 2019; Gupta et al., 2021; Dinesh et al., 2022);
- (4) антагонистическое действие в отношении фитопатогенных микроорганизмов за счет продуцирования сидерофоров, антибиотиков и ферментов, а также конкуренции за питательные вещества (Karthika et al., 2020; Nining et al., 2021; Pellegrini et al., 2020; Ren et al., 2020).

Выявление перспективных ризосферных бактерий и использование их для борьбы с фитопатогенами является актуальным способом увеличения урожайности и качества пшеницы с минимально возможными экологическими рисками. Цель данного исследования — оценить ростостимулирующую и антагонистическую активность бактериальных изолятов, выделенных из ризосферы пшеницы, для дальнейшего создания коммерческих препаратов биофунгицидной направленности. Новизна исследования заключается в выделении местных штаммов ризобактерий, адаптированных к почвенно-климатическим условиям Кемеровской области — Кузбасса.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Материалы

Ризобактерии выделяли из яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Отбор образцов ризосферы пшеницы осуществляли на территории Кемеровской области — Кузбасса (координаты места отбора 55.2778, 86.1619).

### Оборудование

Шейкер-инкубатор LSI-3016A/LSI-3016R (Daihan Labtech, Южная Корея), автоматический микробиологический анализатор Vitek 2 Compact (BioMerieux, Франция), климатическая камера (Binder, Германия), Rapid N cube (Rapid, Германия), спектрофотометр UV 1800 (Shimadzu, Япония).

## Выделение ризобактерий и их характеристика

Для выделения ризобактерий 5 г измельченной ризосферы пшеницы культивировали в 100 мл питательной среды, не содержащей источников азота, следующего состава, г/л: сахара (Ленреактив, Россия) — 20,0; калийфосфорнокислый 2-замещенный (Chem-ех, Россия) — 1,0; магний сернокислый (Химбаза, Россия) — 5,0; натрий хлористый (Ленреактив, Россия) — 5,0; натрий молибденовокислый (Ленреактив, Россия) — 0,005; железо (II) сернокислое (Chem-ех, Россия) — 0,01; кальцийглютексилый (Ленреактив, Россия) — 2,0. Инкубировали в шейкере-инкубаторе LSI-3016A/LSI-3016R (Daihan Labtech, Южная Корея) в течение 48 ч при 27–30 °C и скорости перемешивания 120 об/мин.

Далее осуществляли инкубирование полученной культуральной жидкости в питательной среде, содержащей труднорастворимое соединение фосфора. Для этого 5 мл полученной культуральной жидкости вносили в 100 мл питательной среды следующего состава, г/л: глюкоза (Химреактивы, Россия) — 20,0; натрий хлористый — 0,2; магний сернокислый — 0,1; марганец сернокислый (Ленреактив, Россия) — 0,01; железо (II) сернокислое — 0,01 г; кальций фосфорнокислый (Ленреактив, Россия) — 5,0. Вышеперечисленные способы позволяют выделить бактерии, характеризующиеся способностью к фиксации атмосферного азота и солюбилизации фосфатов — одних из основных свойств стимулирующих рост растений ризобактерий.

Для выделения ризобактерий, способных проявлять активность в обедненных почвах с низким содержанием питательных элементов, инкубировали полученную ранее культуральную жидкость в среде следующего состава, г/л: калий фосфорнокислый 1-замещенный (Chem-ех, Россия) — 15,0; натрий хлористый — 2,5; аммоний хлористый (Химбаза, Россия) — 5,0. Культивировали в условиях, описанных выше. Для получения чистых культур использовали 5-ти кратный пересев истощающим штрихом на чашках Петри с мясо-пептонным агаром.

### Оценка влияния изолятов на индекс всхожести семян пшеницы

По 10 семян пшеницы помещали в две чашки Петри с увлажненными дисками фильтровальной бу-

маги. В одной из чашек семена обрабатывали 15 мл бактериальной суспензии (коэффициента мутности по МакФарланду 1,5) и выращивали в течение 72 ч в климатической камере (Binder, Германия) при температуре 25 °C и влажности 40%. Индекс всхожести рассчитывали по формуле 1 (Migunova et al., 2021):

$$\text{ИБ} = \frac{D_{\text{обр}}}{D_{\text{необр}}},$$

где ИБ — индекс всхожести;  $D_{\text{обр}}$  — длина ростков обработанных семян, см;  $D_{\text{необр}}$  — длина ростков необработанных семян, см.

### Способность к солюбилизации фосфора

Суточную культуру исследуемых бактерий высевали точно на агаризованную среду с труднорастворимым соединением фосфора. Состав среды аналогичен среде используемой на этапе выделения. Культивирование осуществляли в течение 96 ч при температуре 27–30 °C (Belkebla et al., 2022). Способность культуры солюбилизировать фосфор оценивали путем измерения зоны гало вокруг колонии.

### Способность к фиксации азота

Суспензию исследуемых штаммов готовили в 3 мл стерильного физиологического раствора до коэффициента мутности 0,8–1,0 по МакФарланду (титр микроорганизмов  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл) с помощью денситометра. Далее 1 мл суспензии высевали на жидкую среду, не содержащую азот, используемую на этапе выделения ризосферных бактерий. Культивировали в течение 4 суток при температуре 27–30 °C. Далее отделяли культуральную жидкость (КЖ) от клеток с помощью центрифугирования при скорости 8000 об/мин в течение 25 мин, следуя методологии, описанной в Cordova-Rodriguez et al. (2022). Для определения содержания азота в КЖ использовали установку Rapid N cube (Rapid, Германия).

### Способность к продуцированию кинетина

1 мл ранее полученной суспензии добавляли к 10 мл жидкой питательной среды следующего состава (г/л): калий фосфорнокислый 1-замещенный — 12; натрий фосфорнокислый 2-замещенный (Ленреактив, Россия) — 24; аммоний хлористый — 4; натрий хлористый — 2; тиамин (Химреактивы, Россия) — 0,1;

биотин (Диа-М, Россия) — 0,0002. Культивировали в течение 48 ч при температуре 27–30 °С и скорости вращения 120 об/мин. Отделяли клетки от КЖ по методике, описанной ранее и определяли оптическую плотность на спектрофотометре UV 1800 (Shimadzu, Япония) при длине волны 665 нм, в качестве раствора сравнения использовали питательную среду (Patel & Saraf, 2017). Количество синтезируемого кинетина определяли по калибровочному графику стандартного раствора кинетина в пределах от 5 до 100 мкг/мл.

#### **Анализ способности продуцировать индолил-3-уксусную кислоту**

Один мл ранее полученной суспензии добавляли в 10 мл среды Лурия-Бертани. Культивирование микроорганизмов проводили в условиях, описанных в методике определения кинетина. Отделение клеток от КЖ проводили в соответствии с методикой определения азотфиксации. Далее смешивали супернатант с реактивом Сальковского в соотношении 1:1 и оставляли на 30 мин. По истечении времени измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 535 нм. В качестве раствора сравнения использовали питательную среду с реактивом Сальковского в соотношении 1:1 (Asyakina, Vorob'eva et al., 2023). Количество ИУК определяли по калибровочному графику стандартных растворов ИУК концентрации от 5 до 200 мкг/мл.

#### **Анализ способности продуцировать гиббереллиновую кислоту (ГК)**

К 2 мл супернатанта, полученного при анализе на ИУК, добавляли по 280 мкл 10,6 % ферроцианида III калия и 1 М раствор цинка уксуснокислого и встряхивали. Затем центрифугировали в течение 10 мин при скорости 4500 об/мин. Далее 2 мл полученного супернатанта смешивали с 2 мл 30 % соляной кислоты. Раствор выдерживали при комнатной температуре в течение 75 мин и измеряли оптическую плотность при длине волны 254 нм. В качестве раствора сравнения использовали питательную среду с 5 % соляной кислотой в соотношении 1:1. Количество синтезируемой ГК определяли по калибровочному графику стандартного раствора в пределах от 20 до 400 мкг/мл (Abdenaceur et al., 2022).

#### **Анализ антагонистической активности**

Использовали следующие штаммы фитопатогенов: *Fusarium graminearum* F-877, *Botrytis cinerea* F-1006, *Bipolaris sorokiniana* F-529. Данные микроорганизмы культивировали в пробирке с картофельно-глюкозным агаром. Далее фитопатоген засекали поверхностно методом «газона», используя суспензии мутностью 0,5–0,6 по Мак-Фарланду. Суточную культуру исследуемых бактерий, выращенных на бульоне Лурия-Бертани, высевали глубинным способом на агаризованную среду Лурия-Бертани и инкубировали в течение 24 ч при температуре 27–30 °С. Затем вырезали агаровый блок с исследуемой культурой и вставляли его в лунку агарового диска другой чашки Петри с засеянными фитопатогенами. Чашки Петри выдерживали в течение 8 ч в холодильнике при температуре +5 °С для диффузии метаболитов культур бактерий из блока в толщу агара с тест-культурой, а затем инкубировали в термостате при 26–28 °С (Ржевская с соавт., 2021).

#### **Определение культуральных признаков**

Готовили суспензию чистых культур низкой концентрации, проводили посев глубинным способом на мясо-пептонный агар и культивировали в условиях, описанных в Цугкиев и Мкртычан (2013).

#### **Определение морфологических признаков**

Фиксированный мазок бактерии окрашивали по методу Грама. Далее микроскопировали с объективом x90 или x100 (Кулясов и Халгаева, 2020).

#### **Определение биохимических признаков**

Биохимические признаки выделенных микроорганизмов изучали с помощью автоматического микробиологического анализатора Vitek 2 Compact (BioMerieux, Франция) с использованием карт ID-GN (грамотрицательные микроорганизмы) и ID-GP (грамположительные микроорганизмы). Культуры выращивали на колумбийском агаре с кровью в течение 48 ч при температуре 25–27 °С, затем готовили суспензию штаммов с коэффициентом мутности по МакФарланду в пределах 0,50–0,63 с использованием денситометра Densichek plus (Sendle, Россия) (Voitenkova et al., 2018).

## Изучение влияния бактериального изолята на рост и развитие пшеницы

Семена пшеницы предварительно стерилизовали в 5% растворе гипохлорита натрия в течение 10 мин, 5-кратно промывали стерильной дистиллированной водой и сушили в течение 2 ч в стерильных условиях ламинарного бокса («Ламинарные системы», Россия). Далее часть семян инфицировали путем обработки в суспензии фитопатогена с коэффициентом мутности 0,3 по Мак-Фарланду в течение 2 ч, после чего высушивали в стерильных условиях. Бактериальную суспензию готовили в стерильном физиологическом растворе с коэффициентами 0,5; 1,5 и 2,5 по Мак-Фарланду. Семена обрабатывали аналогично вышеуказанной методики. После обработки семена просушивали и осуществляли посев 50 семян в горшок объемом 0,45 л. Семена инкубировали в климатической камере (Binder, Германия) при температуре 25 °C и влажности 40% (Asyakina, Serazetdinova et al., 2023). На 11 сутки измеряли длину ростка и корня, а также их массы. Варианты обработки семян:

Неинфицированный контроль — без обработки.

Инфицированный контроль — обработка суспензией фитопатогена.

Вариант 1 — обработка суспензиями фитопатогена и ризобактерии (коэффициент мутности 0,5 по Мак-Фарланду).

Вариант 2 — обработка суспензиями фитопатогена и ризобактерии (коэффициент мутности 1,5 по Мак-Фарланду).

Вариант 3 — с обработкой суспензиями фитопатогена и ризобактерии (коэффициент мутности 2,5 по Мак-Фарланду).

## Статистическая обработка полученных результатов

Все исследования проводили в пятикратной повторности. Полученные значения выражали как среднее значение пяти измерений со стандартным отклонением. Анализ статистических данных осуществляли при помощи программного про-

дукта Microsoft Office Excel 2007 (12.0.6612.1000) SP3 MSO (12.0.6607.1000) (Microsoft corporation, США). Статистический анализ полученных данных проводили с помощью одномоментного парного критерия Стьюдента, по каждой паре интересов. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Выделение ризобактерий и их характеристика

Из ризосферы пшеницы выделили 17 чистых культур микроорганизмов (№ 1–17). В таблице 1 представлены результаты оценки способности изолятов к фиксации азота, солюбилизации фосфатов, а также их влияние на рост пшеницы (индекс всхожести семян).

Таблица 1

Результаты изучения способности бактериальных штаммов фиксировать азот, солюбилизовать фосфаты и влиять на всхожесть семян

Изолят	Содержание азота, мкг/мл	Солюбилизация фосфатов, см	Индекс всхожести семян
1	850 ± 10	1,60 ± 0,10	1,26 ± 0,03
2	840 ± 10	2,00 ± 0,10	1,19 ± 0,03
3	820 ± 20	0,70 ± 0,10	0,95 ± 0,02
4	800 ± 10	1,20 ± 0,10	1,13 ± 0,02
5	790 ± 10	1,60 ± 0,20	1,15 ± 0,04
6	780 ± 10	0,40 ± 0,10	0,84 ± 0,02
7	760 ± 10	1,30 ± 0,10	1,08 ± 0,02
8	760 ± 10	0,50 ± 0,10	0,91 ± 0,03
9	750 ± 20	1,30 ± 0,10	0,97 ± 0,03
10	710 ± 10	1,60 ± 0,10	0,95 ± 0,02
11	690 ± 10	2,20 ± 0,20	0,89 ± 0,02
12	670 ± 20	0,50 ± 0,10	0,74 ± 0,02
13	670 ± 10	1,50 ± 0,10	0,84 ± 0,03
14	660 ± 20	0,50 ± 0,10	0,62 ± 0,01
15	400 ± 10	2,00 ± 0,30	0,87 ± 0,03
16	320 ± 10	1,00 ± 0,10	0,79 ± 0,02
17	300 ± 10	0,70 ± 0,10	0,65 ± 0,02



Полученные данные свидетельствуют о том, что все изученные штаммы обладают способностью фиксировать азот и солюбилизировать фосфор. Некоторые штаммы также оказали положительное влияние на прорастание семян пшеницы. Наиболее оптимальные свойства демонстрировали изоляты 1; 2; 4; 5 и 7: способность к фиксации азота (850 мкг/мл, 840 мкг/мл, 800 мкг/мл, 780 мкг/мл, 760 мкг/мл соответственно), солюбилизация фосфатов (1,6 см; 2,0 см, 1,2 см; 1,6 см; 1,3 см соответственно) и ростостимулирующий эффект (индекс всхожести > 1). Данные изоляты отобраны для проведения дальнейших исследований.

На следующем этапе изучили способность изолятов синтезировать индолил-3-уксусную и гиббереллиновую кислоты, кинетин. Также оценили антагонистическую активность отобранных штаммов в отношении фитопатогенных грибов *Fusarium graminearum* F-877, *Botrytis cinerea* F-1006, *Bipolaris sorokiniana* F-529. Результаты представлены в Таблицах 2 и 3.

**Таблица 2**

Концентрация индолил-3-уксусной кислоты, гиббереллиновой кислоты и кинетина в культуральной жидкости изолятов

Изолят	ИУК, мг/мл	ГК, мкг/мл	Кинетин, мкг/мл
1	8,16 ± 0,19	366,9 ± 10,5	11,86 ± 0,31
2	9,00 ± 0,25	346,2 ± 9,3	9,56 ± 0,28
4	8,57 ± 0,22	286,3 ± 8,4	6,28 ± 0,15
5	7,10 ± 0,20	342,9 ± 10,1	6,87 ± 0,14
7	4,49 ± 0,11	408,9 ± 11,3	8,25 ± 0,22

**Таблица 3**

Результаты оценки антагонистической активности выделенных бактериальных культур по отношению к фитопатогенным грибам

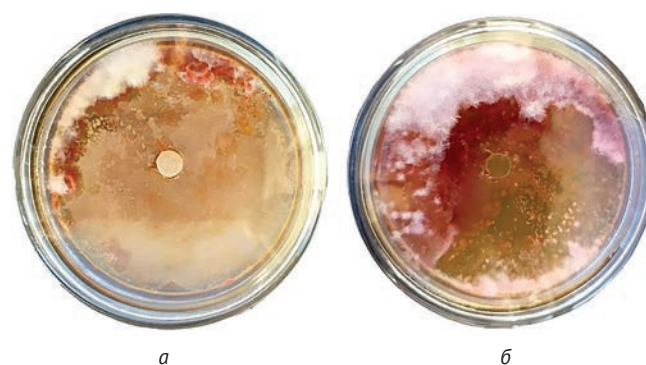
Изолят	Фитопатоген, см		
	F-877	F-1006	F-529
1	9,5 ± 0,3	9,0 ± 0,2	6,8 ± 0,2
2	9,2 ± 0,2	7,1 ± 0,2	6,5 ± 0,1
4	9,2 ± 0,2	4,3 ± 0,1	1,6 ± 0,1
5	5,6 ± 0,2	1,2 ± 0,1	—
7	5,9 ± 0,1	4,3 ± 0,1	—

Согласно представленным результатам, штаммы 1 и 2 продуцируют наибольшее количество индолил-3-уксусной кислоты — 8,16 мг/мл и 9,00 мг/мл соответственно, наименьшей способностью к продуцированию ИУК обладал штамм 7—4,49 мг/мл. Способностью продуцировать ГК обладали все выделенные штаммы, концентрация фитогормона находилась в пределах от 286,3 мкг/мл до 408,9 мкг/мл. Наилучшие показатели по синтезу данного фитогормона продемонстрировал штамм 7—408,9 мкг/мл, наименьшей активностью обладал штамм 4—286,3 мкг/мл. Штаммы 1; 2 и 5 показали средние результаты — 366,6 мкг/мл; 346,2 мкг/мл и 342,9 мкг/мл соответственно. Кинетин является важным показателем, так как является регулятором роста растений. Лидирующие позиции в его синтезе продемонстрировали три изолята, а именно 1 (11,86 мкг/мл), 2 (9,56 мкг/мл) и 7 (8,25 мкг/мл).

Анализ антагонистической активности штаммов показал, что изоляты 5 и 7 не оказывают ингибирующее воздействие на *F-529*. В связи с этим дальнейшие исследования данных штаммов не проводили. Из исследований также исключили изолят 4, так как его способность к синтезу ростостимулирующих веществ значительно уступала изолятам 1 и 2. Наибольшую антагонистическую активность в отношении всех фитопатогенов демонстрировали изоляты 1 и 2. Результаты исследования антагонистической активности изолятов, представлены на Рисунках 1–3.

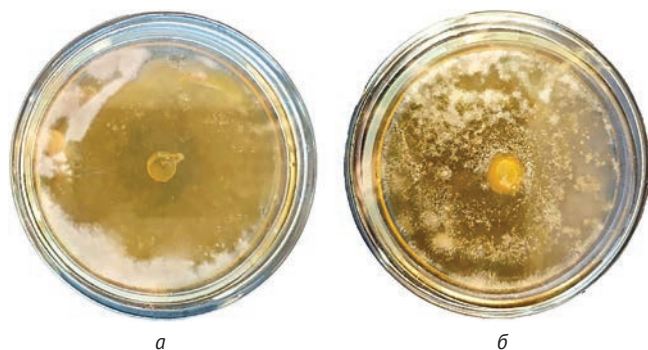
**Рисунок 1**

Результаты антагонистической активности изолята 1 (а) и изолята 2 (б) в отношении фитопатогена *Fusarium graminearum* F-877



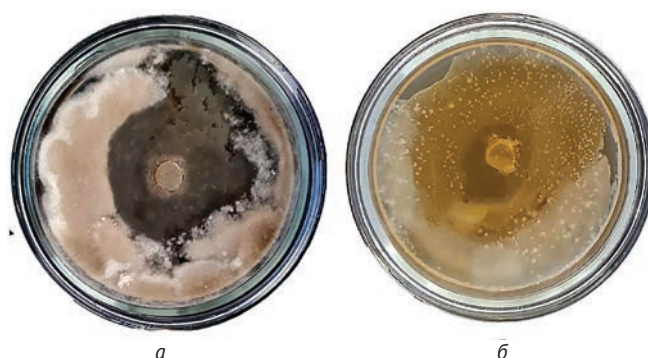
**Рисунок 2**

Результаты антагонистической активности изолята 1 (а) и изолята 2 (б) в отношении фитопатогена *Botrytis cinerea* F-1006



**Рисунок 3**

Результаты антагонистической активности изолята 1 (а) и изолята 2 (б) в отношении фитопатогена *Bipolaris sorokiniana* F-529



Для наиболее перспективных изолятов провели оценку культурально-морфологических признаков. Характер роста изолятов на плотных питательных средах представлен на Рисунке 4.

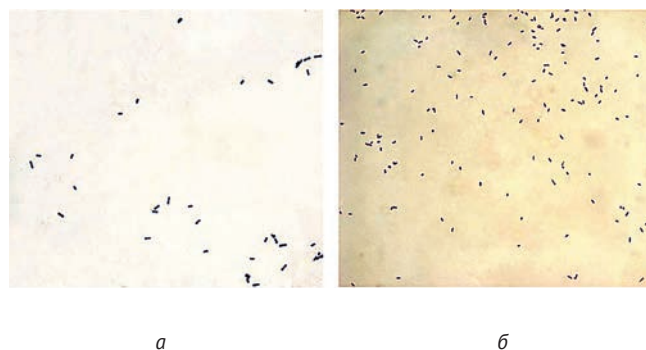
**Рисунок 4**

Характер роста изолятов на питательных средах, где (а) изолят 1; (б) изолят 2



**Рисунок 5**

Микроскопия изолятов при увеличении  $\times 100$  (а) изолят 1; (б) изолят 2



Колонии изолята 1 — белого цвета с круглым краем и матовой фактурой, у изолята 2 — желтого цвета с круглым краем и масляной фактурой. Также изучили морфологические признаки культур. Результаты микроскопического исследования представлены на Рисунке 5.

Микроскопические исследования показали, что изолят 1 представлен грамположительными палочками размером  $(4.1-5.4) \times (0.5-0.8)$  мкм. Изолят 2 — граммотрицательные палочки размером  $(3-3.5) \times (0.2-0.3)$  мкм. Идентификацию изолятов проводили на основании их биохимических характеристик. Результаты представлены в Таблице 4.

**Таблица 4**

Биохимические признаки изолятов

Изолят	Сахара, ферментируемые изолятом
1	D-Amygdalin, D-Ribose, Optochin Resistance, L-Lactate alkalization, Growth in 6.5 % NaCl, D-Sorbitol, D-Mannitol, Salicin, Arginine Dihydrolase 1, Alpha-Galactosidase, N-Acetyl-D-Glucosamine, D-Mannose, Saccharose/Sucrose, L-Pyrrolydonyl-Arylamidase, D-Maltose, Methyl-B-D-Glucopyranoside, D-Trehalose, Alpha-Glucosidase, Bacitracin Resistance
2	L-pyrrolydonyl arylamidase, D-glucose, Fermentation/glucose, Beta-glucosidase, D-mannitol, D-mannose, D-sorbitol, Saccharose/sucrose, D-trehalose, Malonate, L-Lactate alkalisation, Phosphatase, Coumarate

Согласно полученным данным изолят 1 принадлежит к виду *Bacillus velezensis* с достоверностью 96 %, изолят 2 — *Pantoea ananatis* с достоверностью 93 %.

## Изучение влияния бактериального изолята на рост и развитие пшеницы

На следующем этапе исследования изучали способность *Bacillus velezensis* и *Pantoea ananatis* снижать негативное воздействие *Fusarium graminearum*

F-877, *Botrytis cinerea* F-1006 и *Bipolaris sorokiniana* F-529 на рост и развитие пшеницы. Результаты представлены в Таблицах 5 и 6.

**Таблица 5**

Результаты изучения ростостимулирующей активности *Bacillus velezensis* в условиях биотического стресса

Наименование	Средняя длина, мм		Средняя масса, мг	
	Корень	Побег	Корень	Побег
<i>Патоген F-1006</i>				
Контроль неинфицированный	86 ± 4	148 ± 7	103 ± 4	121 ± 6
Контроль инфицированный	61 ± 3	105 ± 5	87 ± 4	101 ± 5
Вариант 1	72 ± 3	115 ± 5	91 ± 4	116 ± 6
	$T_{st1} = 2,80$ $p = 0,026$	$T_{st1} = 3,84$ $p = 0,006$	$T_{st1} = 2,12$ $p = 0,071$	$T_{st1} = 0,59$ $p = 0,574$
	$T_{st2} = 2,59$ $p = 0,036$	$T_{st2} = 1,41$ $p = 0,200$	$T_{st2} = 0,71$ $p = 0,502$	$T_{st2} = 1,92$ $p = 0,096$
Вариант 2	81 ± 4	122 ± 5	101 ± 4	120 ± 6
	$T_{st1} = 1,00$ $p = 0,350$	$T_{st1} = 2,82$ $p = 0,025$	$T_{st1} = 0,88$ $p = 0,406$	$T_{st1} = 0,12$ $p = 0,909$
	$T_{st2} = 4,00$ $p = 0,005$	$T_{st2} = 2,40$ $p = 0,047$	$T_{st2} = 2,47$ $p = 0,042$	$T_{st2} = 2,43$ $p = 0,045$
Вариант 3	82 ± 4	136 ± 7	104 ± 5	122 ± 6
	$T_{st1} = 0,80$ $p = 0,450$	$T_{st1} = 1,21$ $p = 0,264$	$T_{st1} = 0,16$ $p = 0,880$	$T_{st1} = 0,12$ $p = 0,909$
	$T_{st2} = 4,20$ $p = 0,004$	$T_{st2} = 3,60$ $p = 0,008$	$T_{st2} = 2,65$ $p = 0,032$	$T_{st2} = 2,43$ $p = 0,045$
<i>Патоген F-877</i>				
Контроль неинфицированный	82 ± 4	152 ± 7	101 ± 5	125 ± 6
Контроль инфицированный	62 ± 3	102 ± 5	88 ± 4	110 ± 5
Вариант 1	80 ± 4	125 ± 5	89 ± 5	116 ± 6
	$T_{st1} = 0,35$ $p = 0,734$	$T_{st1} = 3,14$ $p = 0,016$	$T_{st1} = 1,70$ $p = 0,133$	$T_{st1} = 1,06$ $p = 0,324$
	$T_{st2} = 3,60$ $p = 0,009$	$T_{st2} = 2,83$ $p = 0,025$	$T_{st2} = 0,16$ $p = 0,880$	$T_{st2} = 0,70$ $p = 0,507$
Вариант 2	88 ± 4	148 ± 6	107 ± 5	124 ± 6
	$T_{st1} = 1,06$ $p = 0,324$	$T_{st1} = 0,43$ $p = 0,677$	$T_{st1} = 0,85$ $p = 0,424$	$T_{st1} = 0,12$ $p = 0,909$
	$T_{st2} = 5,20$ $p = 0,001$	$T_{st2} = 5,51$ $p = 0,001$	$T_{st2} = 2,97$ $p = 0,020$	$T_{st2} = 1,79$ $p = 0,116$
Вариант 3	94 ± 5	161 ± 7	120 ± 6	143 ± 5
	$T_{st1} = 2,03$ $p = 0,08$	$T_{st1} = 0,91$ $p = 0,393$	$T_{st1} = 2,43$ $p = 0,045$	$T_{st1} = 2,30$ $p = 0,054$
	$T_{st2} = 5,49$ $p = 0,001$	$T_{st2} = 6,51$ $p = 0,001$	$T_{st2} = 4,44$ $p = 0,003$	$T_{st2} = 4,67$ $p = 0,002$

Окончание Таблицы 5

Наименование	Средняя длина, мм		Средняя масса, мг	
	Корень	Побег	Корень	Побег
<i>Патоген F-529</i>				
Контроль неинфицированный	87 ± 4	140 ± 6	114 ± 5	125 ± 6
Контроль инфицированный	68 ± 3	110 ± 5	91 ± 5	106 ± 5
Вариант 1	85 ± 4	139 ± 6	115 ± 5	128 ± 5
	$T_{st1} = 0,35$ $p = 0,734$	$T_{st1} = 0,12$ $p = 0,909$	$T_{st1} = 0,14$ $p = 0,891$	$T_{st1} = 0,38$ $p = 0,712$
	$T_{st2} = 3,40$ $p = 0,011$	$T_{st2} = 3,33$ $p = 0,012$	$T_{st2} = 2,83$ $p = 0,025$	$T_{st2} = 3,11$ $p = 0,017$
Вариант 2	101 ± 4	145 ± 6	119 ± 5	130 ± 6
	$T_{st1} = 0,71$ $p = 0,502$	$T_{st1} = 0,59$ $p = 0,574$	$T_{st1} = 0,71$ $p = 0,502$	$T_{st1} = 0,59$ $p = 0,574$
	$T_{st2} = 5,66$ $p = 0,001$	$T_{st2} = 4,48$ $p = 0,002$	$T_{st2} = 3,39$ $p = 0,011$	$T_{st2} = 3,07$ $p = 0,017$
Вариант 3	106 ± 5	149 ± 7	126 ± 5	136 ± 6
	$T_{st1} = 2,97$ $p = 0,020$	$T_{st1} = 1,06$ $p = 0,324$	$T_{st1} = 1,70$ $p = 0,133$	$T_{st1} = 1,30$ $p = 0,235$
	$T_{st2} = 6,52$ $p = 0,001$	$T_{st2} = 4,53$ $p = 0,003$	$T_{st2} = 4,38$ $p = 0,003$	$T_{st2} = 3,84$ $p = 0,006$

Примечание.  $T_{st1}$  — значение  $t$ -критерий Стьюдента при сравнении изучаемого варианта обработки с неинфицированным контролем,  $T_{st2}$  — значение  $t$ -критерий Стьюдента при сравнении изучаемого варианта обработки с инфицированным контролем

Таблица 6

Результаты изучения ростостимулирующей активности *Pantoea ananatis* в условиях биотического стресса

Наименование	Средняя длина, мм		Средняя масса, мг	
	Корень	Побег	Корень	Побег
<i>Botrytis cinerea F-1006</i>				
Контроль неинфицированный	89 ± 5	145 ± 7	103 ± 5	122 ± 4
Контроль инфицированный	63 ± 2	109 ± 6	82 ± 2	106 ± 4
Вариант 1	75 ± 4	113 ± 6	94 ± 4	108 ± 6
	$T_{st1} = 2,19$ $p = 0,065$	$T_{st1} = 3,47$ $p = 0,010$	$T_{st1} = 1,41$ $p = 0,202$	$T_{st1} = 3,47$ $p = 0,010$
	$T_{st2} = 2,68$ $p = 0,031$	$T_{st2} = 0,47$ $p = 0,652$	$T_{st2} = 2,68$ $p = 0,031$	$T_{st2} = 1,94$ $p = 0,933$
Вариант 2	81 ± 5	125 ± 3	99 ± 5	121 ± 3
	$T_{st1} = 0,71$ $p = 0,502$	$T_{st1} = 2,63$ $p = 0,034$	$T_{st1} = 0,57$ $p = 0,589$	$T_{st1} = 0,20$ $p = 0,847$
	$T_{st2} = 3,90$ $p = 0,006$	$T_{st2} = 2,39$ $p = 0,048$	$T_{st2} = 2,97$ $p = 0,021$	$T_{st2} = 3,00$ $p = 0,019$
Вариант 3	92 ± 5	149 ± 4	101 ± 5	123 ± 4
	$T_{st1} = 0,42$ $p = 0,684$	$T_{st1} = 0,50$ $p = 0,635$	$T_{st1} = 0,28$ $p = 0,785$	$T_{st1} = 0,20$ $p = 0,847$
	$T_{st2} = 5,39$ $p = 0,001$	$T_{st2} = 5,55$ $p = 0,001$	$T_{st2} = 3,53$ $p = 0,009$	$T_{st2} = 3,01$ $p = 0,019$



Наименование	Средняя длина, мм				Средняя масса, мг			
	Корень		Побег		Корень		Побег	
Fusarium graminearum F-877								
Контроль неинфицированный	81 ± 4		134 ± 5		100 ± 3		126 ± 3	
Контроль инфицированный	68 ± 3		118 ± 4		87 ± 5		111 ± 3	
Вариант 1	79 ± 3	T <sub>st1</sub> = 0,40	126 ± 3	T <sub>st1</sub> = 1,37	79 ± 3	T <sub>st1</sub> = 0,40	126 ± 3	T <sub>st1</sub> = 1,37
		p = 0,701		p = 0,212		p = 0,701		p = 0,212
		T <sub>st2</sub> = 2,59		T <sub>st2</sub> = 1,60		T <sub>st2</sub> = 2,59		T <sub>st2</sub> = 1,60
		p = 0,036		p = 0,154		p = 0,036		p = 0,154
Вариант 2	85 ± 4	T <sub>st1</sub> = 0,71	148 ± 3	T <sub>st1</sub> = 2,40	85 ± 4	T <sub>st1</sub> = 0,71	148 ± 3	T <sub>st1</sub> = 2,40
		p = 0,502		p = 0,047		p = 0,502		p = 0,047
		T <sub>st2</sub> = 3,40		T <sub>st2</sub> = 6,00		T <sub>st2</sub> = 3,40		T <sub>st2</sub> = 6,00
		p = 0,011		p = 0,001		p = 0,011		p = 0,001
Вариант 3	91 ± 3	T <sub>st1</sub> = 2,00	159 ± 6	T <sub>st1</sub> = 3,20	91 ± 3	T <sub>st1</sub> = 2,00	159 ± 6	T <sub>st1</sub> = 3,20
		p = 0,085		p = 0,015		p = 0,085		p = 0,015
		T <sub>st2</sub> = 5,42		T <sub>st2</sub> = 5,69		T <sub>st2</sub> = 5,42		T <sub>st2</sub> = 5,69
		p = 0,001		p = 0,001		p = 0,001		p = 0,001
Bipolaris sorokiniana F-529								
Контроль неинфицированный	86 ± 4		139 ± 5		102 ± 5		125 ± 5	
Контроль инфицированный	64 ± 3		115 ± 5		86 ± 4		108 ± 5	
Вариант 1	80 ± 4	T <sub>st1</sub> = 1,06	128 ± 5	T <sub>st1</sub> = 1,56	118 ± 5	T <sub>st1</sub> = 2,26	126 ± 5	T <sub>st1</sub> = 0,14
		p = 0,324		p = 0,163		p = 0,058		p = 0,891
		T <sub>st2</sub> = 3,40		T <sub>st2</sub> = 1,84		T <sub>st2</sub> = 2,26		T <sub>st2</sub> = 2,55
		p = 0,011		p = 0,108		p = 0,058		p = 0,038
Вариант 2	98 ± 4	T <sub>st1</sub> = 2,12	135 ± 5	T <sub>st1</sub> = 0,57	125 ± 5	T <sub>st1</sub> = 3,25	129 ± 5	T <sub>st1</sub> = 0,57
		p = 0,071		p = 0,589		p = 0,014		p = 0,589
		T <sub>st2</sub> = 7,00		T <sub>st2</sub> = 2,83		T <sub>st2</sub> = 3,25		T <sub>st2</sub> = 2,97
		p = 0,001		p = 0,025		p = 0,014		p = 0,020
Вариант 3	102 ± 5	T <sub>st1</sub> = 2,50	140 ± 5	T <sub>st1</sub> = 0,14	128 ± 6	T <sub>st1</sub> = 2,94	131 ± 5	T <sub>st1</sub> = 0,85
		p = 0,041		p = 0,891		p = 0,021		p = 0,424
		T <sub>st2</sub> = 6,69		T <sub>st2</sub> = 3,54		T <sub>st2</sub> = 3,33		T <sub>st2</sub> = 3,25
		p = 0,001		p = 0,009		p = 0,012		p = 0,014

Примечание.  $T_{st1}$  — значение  $t$ -критерия Стьюдента при сравнении изучаемого варианта обработки с неинфицированным контролем,  $T_{st2}$  — значение  $t$ -критерия Стьюдента при сравнении изучаемого варианта обработки с инфицированным контролем

Полученные данные свидетельствуют о том, что *Pantoea ananatis* в варианте обработки 2 и 3 значительно снижает негативный эффект биотического стресса, вызванного *Botrytis cinerea* F-1006.

При обработке данными концентрациями наблюдается статистически достоверное увеличение длины и массы корней и побегов в сравнении с инфицированным контролем. Обработка

также уменьшала негативное воздействие фитопатогенов *Fusarium graminearum* F-877 и *Bipolaris sorokiniana* F-529. При этом статистически достоверного увеличения показателей роста в сравнении с неинфицированным контролем не наблюдалось во всех вариантах экспериментах.

Фитопатоген *Bacillus velezensis* также успешно снижал стресс, вызванный негативным воздействием *Botrytis cinerea* F-1006, *Fusarium graminearum* F-877 и *Bipolaris sorokiniana* F-529. Статистически достоверное улучшение ростовых показателей наблюдалось при всех вариантах обработки (в сравнении с инфицированным контролем). У семян, зараженных *Bipolaris sorokiniana* F-529 при 3 варианте обработки, длина и масса корней были выше, чем у неинфицированного контроля.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ризобактерии находят все большее применение в качестве агентов защиты сельскохозяйственных культур благодаря антагонистической активности в отношении фитопатогенов и ростостимулирующей активности. В настоящей работе изучены свойства двух наиболее перспективных изолятов ризосферы пшеницы, произрастающей на территории Кемеровской области — Кузбасса. Биохимический анализ показал, что изолят 1 являлся *Bacillus velezensis*, а изолят 2 — *Pantoea ananatis*. Полученные нами данные согласуются с результатами других ученых. Например, Chen и соавторы подтвердили, что *B. velezensis* проявляет антагонистическую активность в отношении *F. graminearum* (Chen et al., 2018). Torres и соавторы сообщили о способности *Bacillus velezensis* XT1 фиксировать азот, продуцировать сидерофоры, а также солибилизировать органические и неорганические фосфаты (Torres et al., 2020), что также согласуется с полученными нами данными.

Перспективные свойства представителей *Bacillus velezensis* описаны в современной научной литературе. Так, штамм *B. velezensis* LM2303 способен синтезировать три антибиотика (фенгицин В, итурин А и сурфактин А), активных в отношении патогенов грибной природы (Chen et al., 2018). Антагонистические свойства штамма не ограничиваются антифунгицидной активностью. Его метаболический профиль включает антибактери-

альные вещества, такие как сурфактин А, бутиролин, плантазолин и гидролизированный плантазолин, кианимицин, бацилизин, диффицидин, бациллен А и бациллен В, 7-о-малонил макролактин А и 7-о-сукцинил макролактин А, сидерофор бациллибактин, молибденовый кофактор и тейхуроновую кислоту (Chen et al., 2018). В связи с этим можно предположить, что штамм *Bacillus velezensis*, выделенный в рамках нашей работы, также может проявлять антибактериальные свойства. Однако для подтверждения данной гипотезы требуется проведение дополнительных исследований. При этом следует учесть, что антагонистические свойства *B. velezensis* могут быть обусловлены не только антимикробными метаболитами. Так, Fazle и Baek отметили, что представители *B. velezensis* способны активировать защитные гены растений. В частности авторы наблюдали экспрессию генов, связанных с синтезом жасминовой и салициловой кислот (Fazle & Baek, 2020).

Актуальны исследования выделенных штаммов ризобактерий в полевых условиях. При этом особенно важно оценить влияние обработки бактериальной суспензией штаммов на микробиом почв. Данные, полученные Sun и соавторами, свидетельствуют о том, что представители *Bacillus velezensis* синтезируют аминокислоты с разветвленной цепью, которые участвуют в синтрофическом сотрудничестве. В связи с этим штамм может стимулировать развитие желательной микрофлоры. Данное свойство штамма перспективно для сельского хозяйства, так как колонизация стимулирующими рост растений микроорганизмами увеличивает продуктивность сельскохозяйственных культур (Sun et al., 2022).

Особенный интерес представляет дальнейшее изучение выделенного в настоящем исследовании штамма *Pantoea ananatis*. Представители рода *Pantoea* наиболее известны за счет фитопатогенных свойств (Azizi et al., 2019; Toaza et al., 2021; Toh et al., 2019). Отличия в генетических последовательностях вирулентных штаммов *Pantoea ananatis* и штамма, выделенного в настоящем исследовании, могут пролить свет на механизмы вирулентности. Известно, что мутантные штаммы *Pantoea ananatis* с инактивированным геном *hfq* демонстрировали потерю вирулентности и подвижности (Shin et al., 2019).

Описание не вирулентных представителей *Pantoea* также встречаются в современной научной литературе. Например, в исследовании Lu et al. (2021) *Pantoea ananatis* D1 проявлял множество свойств, способствующих росту растений, включая солюбилизацию фосфатов, выработку индолил-3-уксусной кислоты, дезаминазы 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты и сидерофоров. Штамм *Pantoea ananatis* HCR2 способствовал росту салата за счет солюбилизации фосфора и производства дезаминазы 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты, индолил-3-уксусной кислоты и сидерофоров (Liu et al., 2021[1]). Эти сведения согласуются с результатами проведенного нами исследования.

Следует отметить, что в настоящей работе мы фокусировались на изучении конкретных штаммов *Bacillus velezensis* и *Pantoea ananatis*, поэтому полученные данные нельзя проецировать на других представителей данных видов. Кроме того, наше исследование проводилось исключительно на пшенице. Поэтому воздействие этих штаммов на другие культуры растений остается неизвестным и требует дальнейших исследований. Полученные результаты представляют собой отправную точку для развития биотехнологического направления, связанного с использованием микробных биопрепаратов в качестве комбинированных удобрений и средств защиты для злаковых культур в органическом сельском хозяйстве. Дальнейшие исследования должны быть сосредоточены на подробном изучении механизмов воздействия этих биопрепаратов на пшеницу, а также на взаимодействии между штаммами ризобактерий. Это позволит оптимизировать их эффективность и разработать комплексные препараты на их основе. Также важным аспектом является анализ продуцируемых штаммами метаболитов для полного понимания этих механизмов. Для получения более полной картины о влиянии выделенных ризобактерий на качественные и количественные изменения в разнообразии микробиоты почвы необходимо провести метагеномные исследования.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целью данного исследования являлась оценка ростостимулирующей и антагонистической активности бактериальных изолятов, выделенных из ризосферы пшеницы, для дальнейшего созда-

ния коммерческих препаратов биофунгицидной направленности.

В Кемеровской области — Кузбассе из ризосферы пшеницы выделено 17 штаммов. На основании оценки их ростостимулирующих свойств (фиксации азота, солюбилизации фосфатов, стимуляции роста пшеницы, синтеза фитогормонов) и антагонистической активности выявили два перспективных штамма: *Bacillus velezensis* (изолят 1) и *Pantoea ananatis* (изолят 2).

Исследование на растениях показало, что эти штаммы эффективно снижают стресс от фитопатогенов, включая *Fusarium graminearum* F-877, *Botrytis cinerea* F-100 и *Bipolaris sorokiniana* F-529. Обработка суспензией *Bacillus velezensis* увеличивала длину и массу корней проростков семян, зараженных *Bipolaris sorokiniana* F-529.

Эти штаммы демонстрируют потенциал для борьбы с грибковыми инфекциями пшеницы и могут быть использованы для создания комплексного препарата, так как способны фиксировать азот (*Bacillus velezensis* — 850 мкг/мл, *Pantoea ananatis* — 840 мкг/мл) и солюбилизовать фосфаты (*Bacillus velezensis* — 1,60 см, *Pantoea ananatis* — 2,00 см). Таким образом, цель исследования достигнута в полном объеме. Следует отметить, что сведения о ростостимулирующих свойствах *Pantoea ananatis* стали неожиданным открытием, так как род *Pantoea* наиболее известен в контексте фитопатогенных свойств. Авирулентность штамма может быть обусловлена контактом с другими микроорганизмами (горизонтальный перенос генов) или результатом адаптации к определенным почвенно-климатическим условиям.

Будущие исследования могут сосредоточиться на анализе метаболитов для понимания механизмов воздействия на растения, а также на изучении взаимодействия между штаммами, чтобы усилить их эффективность. Штаммы будут зарегистрированы во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт» для дальнейшего коммерческого использования.

## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Юлия Ренатовна Серазетдинова:** проведение исследования.

**Наталья Вячеславовна Фотина:** проведение исследования.

**Людмила Константиновна Асякина:** создание черновика рукописи, руководство исследованием.

**Ирина Сергеевна Милентьева:** разработка методологии исследования.

**Александр Юрьевич Просеков:** редактирование рукописи.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Кулясов, П. А., Халгаева, К. Э. (2020). Окрашивания усовершенствованным методом по Ганс Кристиану Граму для идентификации живого биологического возбудителя ракового новообразования молочной железы кошки. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*, 3, 28–34.
- Kulyasov, P. A., & Khalgaeva, K. E. (2020). Staining by the improved method according to Hans Christian Gram for the identification of the living biological agent of cancerous neoplasm of the cat's mammary gland. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*, 3, 28–34. (In Russ.)
- Плотников, С. Е., Латкова, Е. В. (2020). Перспективы эффективности возделывания яровой пшеницы (на примере Кузбасса). *Инновационная наука*, 4, 79–81.
- Plotnikov, S. E., & Latkova, E. V. (2020). Prospects for the efficiency of spring wheat cultivation (the case of Kuzbass). *Innovative Science*, 4, 79–81. (In Russ.)
- Ржевская, В. С., Семенова, Е. Ф., Зайцев, Г. П., Сластья, Е. А., Омелченко, А. В., Бугара, И. А., Теплицкая, Л. М., Цокало, И. Е. (2021). Антагонистическое действие молочнокислых бактерий и их консорциума с дрожжами на патогенные микроорганизмы. *Биотехнология*, 37(5), 96–107. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2021-37-5-96-107>
- Rzhevskaya, V. S., Semenova, E. F., Zaitsev, G. P., Slastya, E. A., Omelchenko, A. V., Bugara, I. A., Teplitskaya, L. M., & Tsokalo, I. E. (2021). Antagonistic action of lactic acid bacteria and their consortium with yeasts against pathogenic microorganisms. *Biotechnology*, 37(5), 96–107. (In Russ.) <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2021-37-5-96-107>
- Фасхутдинова, Е. Р., Голубцова, Ю. В., Неверова, О. А., Ларичев, Т. А., Хорошкина, Н. Н. (2023). Перспективы использования эндофитных и экстремофильных микроорганизмов в борьбе с фитопатогенами сельскохозяйственных культур (обзор). *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*, 24(5), 720–738. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.5.720-738>
- Faskhutdinova, E. R., Golubtsova, Yu. V., Neverova, O. A., Larichev, T. A., & Khoroshkina, N. N. (2023). Prospects for the use of endophytic and extremophilic microorganisms in the fight against phytopathogens of agricultural crops (review). *Agrarian Science of Euro-North-East*, 24(5), 720–738. (In Russ.) <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.5.720-738>
- Цугкиев, Б. Г., Мкртычан, М. В. (2013). Морфологические и культуральные свойства микроорганизмов, выделенных из пищеварительного тракта диких животных. *Известия Горского государственного аграрного университета*, 50(3), 270–273.
- Tsugkiev, B. G., & Mkrtchyan, M. V. (2013). Morphological and cultural properties of microorganisms isolated from the digestive tract of wild animals. *News of the Gorsky State Agrarian University*, 50(3), 270–273. (In Russ.)
- Abdenaceur, R., Farida, B. T., Mourad, D., Rima, H., Zahia, O., Fatma, S. H. (2022). Effective biofertilizer *Trichoderma* spp. isolates with enzymatic activity and metabolites enhancing plant growth. *International Microbiology*, 25(4), 817–829. <https://doi.org/10.1007/s10123-022-00263-8>
- Asyakina, L. K., Serazetdinova, Yu. R., Frolova, A. S., Fotina, N. V., Neverova, O. A., & Petrov, A. N. (2023). Antagonistic activity of extremophilic bacteria against phytopathogens in agricultural crops. *Food Processing: Techniques and Technology*, 53(3), 565–575. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2457>
- Asyakina, L. K., Vorob'eva, E. E., Proskuryakova, L. A., Zharko, M. Yu. (2023). Evaluating extremophilic microorganisms in industrial regions. *Foods and Raw Materials*, 11(1), 162–171. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-556>
- Azizi, M. M. F., Zulperi, D., Rahman, M. A. A., Abdul-Basir, B., Othman, N. A., Ismail, S. I., Hata, E. M., Ina-Salwany, M. Y., & Abdullah, M. A. F. (2019). First report of *Pantoea ananatis* causing leaf blight disease of rice in peninsular Malaysia. *Plant Disease*, 103, Article 2122. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0191-PDN>
- Batool, S., & Iqbal, A. (2019). Phosphate solubilizing rhizobacteria as alternative of chemical fertilizer for growth and yield of *Triticum aestivum* (Var. Galaxy 2013). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26, 1400–1410. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.05.024>
- Belkebla, N., Bessai, S. A., Melo, J., Caeiro, M. F., Cruz, C., & Nabti, E.-h. (2022). Restoration of *Triticum aestivum* growth under salt stress by phosphate-solubilizing bacterium isolated from Southern Algeria. *Agronomy*, 12(9), Article 2050. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092050>
- Brauer, V. S., Rezende, C. P., Pessoni, A. M., De Paula, R. G., Rangappa, K. S., Nayaka, S. C., Gupta, V. K., & Almeida, F. (2019). Antifungal agents in agriculture: Friends and foes of public health. *Biomolecules*, 9, Article 521. <https://doi.org/10.3390/biom9100521>



- Carcea, M. (2020). Nutritional value of grain-based foods. *Foods*, 9(4), Article 504. <https://doi.org/10.3390/foods9040504>
- Chen, L., Heng, J., Qin, S., & Bian, K. (2018). A comprehensive understanding of the biocontrol potential of *Bacillus velezensis* LM2303 against Fusarium head blight. *PLoS One*, 13, Article e0198560. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198560>
- Cordova-Rodriguez, A., Rentería-Martínez, M. E., López-Miranda, C. A., Guzmán-Ortiz, J. M., & Moreno-Salazar, S. F. (2022). Simple and sensitive spectrophotometric method for estimating the nitrogen-fixing capacity of bacterial cultures. *MethodsX*, 9, Article 101917. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2022.101917>
- Dinesh, R., Srinivasan, V., Praveena, R., Subila, K. P., George, P., Das, A., Shajina, O., Anees, K., Leela, N. K., & Haritha, P. (2022). Exploring the potential of P solubilizing rhizobacteria for enhanced yield and quality in turmeric (*Curcuma longa* L.). *Industrial Crops and Products*, 189, Article 115826. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115826>
- El-Gremi, S. M., Draz, I. S., & Youssef, W. A.-E. (2017). Biological control of pathogens associated with kernel black point disease of wheat. *Crop Protection*, 91, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.08.034>
- Fazle, R. M., & Baek, K.-H. (2020). Antimicrobial activities of lipopeptides and polyketides of *Bacillus velezensis* for agricultural applications. *Molecules*, 25, Article 4973. <https://doi.org/10.3390/molecules25214973>
- Giraldo, P., Benavente, E., Manzano-Agugliaro, F., & Gimenez, E. (2019). Worldwide research trends on wheat and barley: A bibliometric comparative analysis. *Agronomy*, 9, Article 352. <https://doi.org/10.3390/agronomy9070352>
- Gupta, R., Anshu, Noureldeen, A., & Darwish, H. (2021). Rhizosphere mediated growth enhancement using phosphate solubilizing rhizobacteria and their tri-calcium phosphate solubilization activity under pot culture assays in Rice (*Oryza sativa*). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28, 3692–3700. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.05.052>
- Husna, Hussain, A., Shah, M., Hamayun, M., Iqbal, A., Qadir, M., Alataway, A., Dewidar, A. Z., Elansary, H. O., & Lee, I.-J. L. (2023). Phytohormones producing rhizobacteria alleviate heavy metals stress in soybean through multilayered response. *Microbiological Research*, 266, Article 127237. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127237>
- Karthika, S., Varghese, S., & Jisha, M. S. (2020). Exploring the efficacy of antagonistic rhizobacteria as native biocontrol agents against tomato plant diseases. *3 Biotech*, 10, Article 320. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02306-1>
- Khumairah, F. H., Setiawati, M. R., Fitriatin, B. N., Simarmata, T., Alfajar, S., Ansari, M. J., Enshasy, H. A. E., Sayyed, R. Z., & Najafi, S. (2020). Halotolerant plant growth-promoting rhizobacteria isolated from saline soil improve nitrogen fixation and alleviate salt stress in rice plants. *Frontiers in Microbiology*, 13, Article 905210. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.905210>
- Liu, X., Chen, C., Wang, J., Zou, S., & Long, X. (2021). Phosphorus solubilizing bacteria *Bacillus thuringiensis* and *Pantoea ananatis* simultaneously promote soil inorganic phosphate dissolution and soil Pb immobilization. *Rhizosphere*, 20, Article 100448. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100448>
- Lu, L., Chang, M., Han, X., Wang, Q., Wang, J., Yang, H., Guan, Q., & Dai, S. (2021). Beneficial effects of endophytic *Pantoea ananatis* with ability to promote rice growth under saline stress. *Journal of Applied Microbiology*, 131, 1919–1931. <https://doi.org/10.1111/jam.15082>
- Martynenko, E., Arkhipova, T., Safronova, V., Seldimirova, O., Galin, I., Akhtyamova, Z., Veselov, D., Ivanov, R., & Kudoyarova, G. (2022). Effects of phytohormone-producing rhizobacteria on casparian band formation, ion homeostasis and salt tolerance of durum wheat. *Biomolecules*, 12, Article 230. <https://doi.org/10.3390/biom12020230>
- Migunova, V. D., Tomashevich, N. S., Konrat, A. N., Lychagina, S. V., Dubyaga, V. M., D'Addabbo, T., Sasanelli, N., & Asaturova, A. M. (2021). Selection of bacterial strains for control of root-knot disease caused by *Meloidogyne incognita*. *Microorganisms*, 9, Article 1698. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081698>
- Nining, H., Elkawakib, S., Burhanuddin, R., & Feranita, H. (2021). Isolation and characterization of N-fixing and IAA producing rhizobacteria from two rice field agro-ecosystems in South Sulawesi, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22, 2497–2503. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220506>
- Parashar, M., Dhar, S. K., Kaur, J. A., Chauhan, A., Tamang, J., Singh, G. B., Asyakina, L., Perveen, K., Khan, F., Bukhari, N. A., Mudgal, G., & Gururani, M. A. (2023). Two novel plant-growth-promoting *Lelliottia amnigena* isolates from *Euphorbia prostrata* Aiton enhance the overall productivity of wheat and tomato. *Plants*, 12, Article 3081. <https://doi.org/10.3390/plants12173081>
- Patel, T., & Saraf, M. (2017). Biosynthesis of phytohormones from novel rhizobacterial isolates and their *in vitro* plant growth-promoting efficacy. *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 480–487. <https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1392625>
- Pellegrini, M., Ercole, C., Zio, C. D., Matteucci, F., Pace, L., & Gallo, M. D. (2020). *In vitro* and *in planta* antagonistic effects of plant growth-promoting rhizobacteria consortium against soilborne plant pathogens of *Solanum tuberosum* and *Solanum lycopersicum*. *FEMS Microbiology Letters*, 367, Article fnaa099. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa099>
- Ranadev, P., Nagaraju, K., Ramaiah, M., & Kumari, R. (2019). Studies on isolation, characterization and in-vitro screening of plant growth promoting rhizobacteria from rhizospheric soil of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8, 790–803. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.806.096>
- Ren, X., Zhang, Q., Zhang, W., Mao, J., & Li, P. (2020). Control of aflatoxigenic molds by antagonistic microorganisms: Inhibitory behaviors, bioactive compounds, related mechanisms, and influencing factors. *Toxins*, 12, Article 24. <https://doi.org/10.3390/toxins12010024>
- Renoud, S., Bouffaud, M.-L., Dubost, A., Prigent-Combaret, C., Legendre, L., Moëgne-Loccoz, Y., & Muller, D. (2020). Co-occurrence of rhizobacteria with nitrogen fixation

- and/or 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deamination abilities in the maize rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, *FEMS Microbiology Ecology*, 96(5), Article fiae062. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiae062>
- Shin, G. Y., Schachterle, J. K., Shyntum, D. Y., Moleleki, L. N., Coutinho, T. A., & Sundin, G. W. (2019). Functional characterization of a global virulence regulator Hfq and identification of Hfq-dependent sRNAs in the plant pathogen *Pantoea ananatis*. *Frontiers in Microbiology*, *10*, Article 2075. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02075>
- Sun, X., Xu, Z., Xie, J., Hesselberg-Thomsen, V., Tan, T., Zheng, D., Strube, M. L., Dragoš, A., Shen, Q., Zhang, R., & Kovács, Á.T. (2022). *Bacillus velezensis* stimulates resident rhizosphere *Pseudomonas stutzeri* for plant health through metabolic interactions. *ISME Journal*, *16*, 774–787. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01125-3>
- Toaza, A., Caiza, R. B., Garrido, A. D., Moreno, C. R., Guevara, J., Regalado, H., Flores, F. J., Ramos, L. A., & Garrido, P. A. (2021). First report of *Pantoea ananatis* causing leaf spot disease of maize in Ecuador. *Plant Disease*, *105*, Article 3286. <https://doi.org/10.1094/pdis-02-21-0298-pdn>
- Toh, W. K., Loh, P. C., & Wong, H. L. (2019). First report of leaf blight of rice caused by *Pantoea ananatis* and *Pantoea dispersa* in Malaysia. *Plant Disease*, *103*, 1764–1764. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2299-PDN>
- Torres, M., Llamas, I., Torres, B., Toral, L., Sampedro, I., & Béjar, V. (2020). Growth promotion on horticultural crops and antifungal activity of *Bacillus velezensis* XT1. *Applied Soil Ecology*, *150*, Article 103453. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103453>
- Voitenkova, E. V., Matveeva, Z. N., Makarova, M. A., & Egorovaets, S. A. (2018). Difficulties in identification of *Comamonas kerstersii* strains isolated from intestinal microbiota of residents of the Republic of Guinea and Russian federation. *Russian Journal of Infection and Immunity*, *8*(2), 164–168. <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2018-2-163-168>

УДК 664.4:004.932

# Визуальная оценка состояния шоколадной массы при помощи системы технического зрения

Российский биотехнологический университет, г. Москва, Российская Федерация

Э. Д. Шибанов, И. Г. Благовещенский, Е. А. Назойкин

## КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Эдуард Дмитриевич Шибанов

E-mail: shibanoved@mgupp.ru

## ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

## ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Шибанов, Э. Д., Благовещенский, И. Г., & Назойкин, Е. А. (2023). Визуальная оценка состояния шоколадной массы при помощи системы технического зрения. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 114–124. <https://doi.org/10.36107/spfrp.2023.4.420>

ПОСТУПИЛА: 04.07.2023

ПРИНЯТА: 15.12.2023

ОПУБЛИКОВАНА: 30.12.2023

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.



## АННОТАЦИЯ

**Введение:** Вопросы повышения качества пищевой 3D печати шоколадом и шоколадной глазурью затрагивались во многих современных исследованиях. Большинство работ посвящены разработке подающих механизмов, систем охлаждения и изменению состава сырья, однако процесс пищевой 3D печати не рассматривался с точки зрения автоматизации. В данной работе предлагается оценивать агрегатное состояние верхнего слоя нанесённого материала, для адаптивного управления режимами печати. Корректное определение текущего состояния нанесённого материала позволит увеличивать или уменьшать скорость печати, влиять на качество изделия и общее время построения модели. В исследовании были проведены практические эксперименты по охлаждению шоколадной массы с использованием системы технического зрения.

**Цель:** Выявить зависимость оттенка нанесённой шоколадной массы от её температуры при естественном охлаждении, для того чтобы оценить возможность использования технического зрения в качестве визуального датчика в системе автоматизированного контроля за процессом 3D печати шоколадной массой. Согласно гипотезе исследования, агрегатное состояние нанесённого материала возможно контролировать при помощи системы технического зрения, на основании изменения его оттенка.

**Материалы и методы:** В качестве объекта исследования выступал процесс естественного охлаждения жидкой шоколадной массы (шоколадная глазурь Belgostar и бельгийский шоколад Callebaut). Были проведены практические эксперименты по охлаждению сырья, в результате которых получены числовые данные. Методом анализа и чистки данных были получены отфильтрованные значения, по которым построены графики зависимости средних цветовых значений каналов: «R», «G», «B» в цветовом пространстве RGB от температуры и времени охлаждения. Для изучения графиков использовался метод визуального анализа. Для контроля цветности сырья была использована Web-камера, компьютер и вспомогательное ПО на основе библиотеки OpenCV. Исследованы условия освещения для проведения визуальной оценки агрегатного состояния шоколада при помощи Web-камеры. Для проведения эксперимента был использован светорассеиватель и несколько источников освещения (3000K, 4000K, 5000K).

**Результаты:** Выявлена зависимость оттенка нанесённой шоколадной массы от её температуры при естественном охлаждении. В ходе визуального анализа построенных графиков установлена тенденция резкого изменения цветности образцов по всем цветовым каналам «R», «G», «B» в момент начала кристаллизации. Выявлен наиболее информативный цветовой канал - «B», показавший наибольшую амплитуду изменения в момент кристаллизации во всех экспериментах, как для глазури, так и для шоколада. Наибольшее изменение цветности наблюдается при освещении с цветовой температурой 3000K (тёплый свет).

**Выводы:** Система технического зрения способна зафиксировать изменение цветности шоколадной массы, в процессе её охлаждения. Момент начала кристаллизации шоколадной массы совпадает с моментом резкого изменения её цветности, что указывает на наличие взаимозависимости между оттенком шоколадной массы и её агрегатным состоянием. Для фактического определения момента начала процесса кристаллизации необходимо провести анализ графика изменения цветности и найти аномальное и нехарактерное изменение.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

3D печать; шоколад; пищевые аддитивные технологии; техническое зрение; анализ данных; техническое зрение в 3D печати; техническое зрение в пищевой промышленности

# Visual Assessment of the State of the Chocolate Mass Using a Vision System

Russian Biotechnological University,  
Moscow, Russian Federation

Eduard D. Shibarov, Ivan G. Blagoveshchensky, Evgeny A. Nazoykin

## CORRESPONDENCE:

Eduard Dmitrievich Shibarov

E-mail: shibaroved@mgupp.ru

## DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

## FOR CITATIONS:

Shibarov, E.D., Blagoveshchensky, I.G., & Nazoykin, E.A. (2023). Visual assessment of the state of the chocolate mass using a vision system. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 114–124. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.420>

RECEIVED: 04.07.2023

ACCEPTED: 15.12.2023

PUBLISHED: 30.12.2023

## DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.



## ABSTRACT

**Introduction:** The issues of improving the quality of food 3D printing with chocolate and chocolate glaze have been addressed in many modern studies. Most of the research is devoted to the development of extruders, cooling systems and changes in the composition of raw materials, but the 3D food printing process has not been considered from the point of view of automation. In this work, it is proposed to evaluate the aggregate state of the top layer of the applied material for adaptive control of printing modes. Correct determination of the current state of the material will allow you to increase or decrease the application speed, influence the quality of the product and the overall time of constructing the model. The study conducted practical experiments on cooling chocolate mass using a vision system.

**Purpose:** To reveal the dependence of the shade of the applied chocolate mass on its temperature during natural cooling, in order to evaluate the possibility of using technical vision as a visual sensor an automated control system for the process of 3D printing with chocolate mass. According to the research hypothesis, the aggregate state of the applied material can be controlled using a technical vision system, based on changes in its shade.

**Materials and Methods:** The object of the study was the process of natural cooling of liquid chocolate mass (Belgostar chocolate glaze and Belgian Callebaut chocolate). Practical experiments on cooling raw materials were carried out, as a result of which numerical data were obtained. Using the method of data analysis and cleaning, filtered values were obtained, from which graphs were constructed of the dependence of the average color values of the channels: "R", "G", "B" in the RGB color space on temperature and cooling time. To study the graphs, the method of visual analysis was used. To control the color of raw materials, a Web camera, a computer and auxiliary software based on the OpenCV library were used. Lighting conditions were studied to conduct a visual assessment of the state of aggregation of chocolate using a Web camera. To conduct the experiment, a light diffuser and several light sources (3000K, 4000K, 5000K) were used.

**Results:** The dependence of the shade of the applied material on its temperature during natural cooling was revealed. In the course of visual analysis of the constructed graphs, a tendency was established for a sharp change in the color of the samples in all color channels "R", "G", "B" at the time of the onset of crystallization. The most informative color channel was revealed - "B", which showed the largest amplitude of change at the moment of crystallization in all experiments, both for glaze and for chocolate. The lighting conditions for visual assessment of the state of aggregation of chocolate using a Web camera have been studied. The greatest change in color is observed under illumination with a color temperature of 3000K (warm light).

**Conclusion:** The technical vision system is capable of recording a change in the color of the chocolate mass during its cooling: the moment of the beginning of crystallization of the chocolate mass coincides with the moment of a sharp change in its color, which indicates the presence of an interdependence between the shade of the chocolate mass and its state of aggregation. To actually determine the crystallization process begins, it is necessary to analyze the graph of color changes and find an anomalous and uncharacteristic change.

## KEYWORDS

3D printing; chocolate; food additive technologies; vision; data analysis; vision in 3D printing; vision in the food industry



## ВВЕДЕНИЕ

3D печать пищевыми ингредиентами — одно из перспективных и развивающихся направлений (Семенов и др., 2021; Скоморохова и др., 2021), имеющее особое значение для решения задач персонализированного питания (Eswaran et al., 2023; Soni et al., 2022). В национальной технологической инициативе FoodNet пищевые аддитивные технологии рассматриваются в качестве одного из инструментов развития пищевой промышленности. Исследователи по всему миру активно изучают и разрабатывают технологии печати пищевыми продуктами (Oral et al., 2021; Ma & Zhang, 2022). Большинство опубликованных исследований по теме посвящены экструзионной 3D печати гелеобразными материалами (Zhu et al., 2022; Agarwal et al., 2021). В том числе и печати шоколадом, различными видами глазурей и прочими кондитерскими ингредиентами (Godoi et al., 2016; Izdebska & Zolek-Tryznowska, 2016; Karavasili et al., 2020). Особый интерес вызывает 3D печать шоколадом, так как она позволяет создавать различные фигуры, украшения для тортов, сладкие открытки, и брендированные, персональные подарки (Lanaro et al., 2019). Однако на текущем этапе развития 3D печать шоколадом имеет ряд недостатков, в том числе, низкую скорость печати и кропотливую настройку параметров, что вызывает трудности при печати сложных трёхмерных моделей (Rando & Ramaioli, 2021.).

Для оценки пригодности продуктов к 3D печати обычно ориентируются на их реологические свойства (Outrequin et al., 2022). Проводят исследования с целью изменения свойств исходного сырья, чтобы повысить его пригодность к печати. Например, путём введения в состав шоколада различных добавок, в том числе стеарат магния для улучшения проходимости потока и увеличения стабильности печати (Mantihal et al., 2017; Мартеха & Андреев, 2021). Проводились исследования по приготовлению шоколада с пониженным содержанием жиров (You et al., 2023). Для увеличения скорости печати, предлагается дополнительно охлаждать слой наносимого шоколада. Lanaro et al. (2017) представили принтер и конструкцию системы охлаждения, позволяющую печатать более сложные объекты. Благодаря охлаждённому потоку воздуха, подаваемого в зону печати, верхний слой шоколада застывает быстрее, что позволяет увеличить общую скорость печати и формировать выступающие элементы без провисания.

Благовещенский и соавторы (2020) сделали заключение о необходимости автоматизированного контроля за процессом пищевой 3D печати шоколадом, с использованием системы технического зрения и интеллектуальных технологий. Их применение поможет упростить процесс подбора параметров печати для нового материала, а также повысить стабильность качества печати. Интеграция машинного обучения и традиционных алгоритмов управления позволяет обеспечить управление с обратной связью, что является перспективным направлением развития аддитивных технологий (Tamir et al., 2023). Уже известны попытки разработать системы автоматизированного контроля за процессом 3D печати пластиком и даже бетоном (Holzmond & Li, 2017; Nuchitprasitchai et al., 2017; Straub, 2015). Однако подобных решений для контроля качества пищевой 3D печати предложено не было. Chachlioutaki et al. (2022), Mohapatra et al. (2022), Lafeber et al. (2021) исследовали свойства и поднимали вопросы качества лекарств, напечатанных на 3D принтере, которые были решены лабораторным путём.

Сегодня системы технического зрения широко применяются при анализе проблемных участков производственного процесса в пищевой промышленности (Аднодворцев и соавт., 2022; Благовещенский и соавт., 2016; Благовещенский и соавт., 2015), а интеллектуальные и нейросетевые технологии позволяют корректировать настройки технологического процесса (Петряков и соавт., 2018; Ребус и Благовещенский, 2022; Благовещенский и соавт., 2022). Компьютерное зрение может найти свое применение и в области пищевых аддитивных технологий, для контроля состояния наносимого шоколада, а также для определения степени готовности мучных изделий или уровня прожарки мяса, в режиме реального времени.

На основании практического опыта, результатов экспериментальных исследований и наблюдений, были выявлены маркеры, которые могут быть использованы при автоматизированном контроле технологическим процессом пищевой 3D печати шоколадных изделий (Благовещенский и соавт., 2020). Одним из таких показателей является агрегатное состояние нанесённого материала, которое оказывает ключевое влияние на скорость выращивания трёхмерного изделия. При недостаточной интенсивности застывания

материала приходится принудительно ограничивать скорость его нанесения, так как уложенный слой шоколада ещё не успел застыть, а на него уже наносится новый. Под весом вновь нанесённого слоя, предыдущий — теряет свою форму и деформируется. Таким образом готовый продукт получается искажённым и не соответствует заданной трёхмерной модели. Для того, чтобы оптимизировать процесс: сохранить точность печати и уменьшить общее время выращивания трёхмерного изделия, необходимо оценивать состояние текущего слоя шоколада в режиме реального времени и оказывать влияние на скоростные параметры нанесения материала печати в зависимости от интенсивности его застывания, площади слоя, окружающей температуры и т.д.; ограничивать скорость там, где это действительно необходимо, и увеличивать скорость, если шоколад успевает застывать быстрее, чем наносится слой (Rando P & Ramaioli, 2021.).

Цель данного исследования: выявить зависимость оттенка нанесённой шоколадной массы от её температуры при естественном охлаждении, для того чтобы оценить возможность использования технического зрения в качестве визуального датчика в системе автоматизированного контроля за процессом 3D печати шоколадной массой. Это позволит контролировать состояние нанесённого сырья и адаптивно управлять параметрами текущего процесса печати. В ходе исследования были решены следующие задачи: разработка вспомогательной программы для обработки видео сигнала, организация эксперимента, обработка полученных данных, анализ результатов. Согласно гипотезе исследования: агрегатное состояние нанесённого материала возможно контролировать при помощи системы технического зрения, на основании изменения его оттенка. Чтобы подтвердить наше предположение, необходимо обнаружить зависимость цветности шоколадной массы от её температуры, в момент охлаждения и фазового перехода из жидкого состояния в твёрдое. Подтверждение данной гипотезы задаст дальнейшее направление работы в области автоматизированного контроля технологическим процессом 3D печати шоколадной массой. Вопрос об оценке агрегатного состояния шоколада наносимого слоя может быть решён при помощи визуального контроля с использованием системы технического зрения (Web-камеры).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объект

В качестве объекта исследования выступает процесс естественного охлаждения жидкой шоколадной массы, равномерно распределённой по поверхности. Для сравнения использовалось 2 материала: бельгийский шоколад «Callebaut» (без проведения процесса темперирования) и шоколадная глазурь марки «Belgostar».

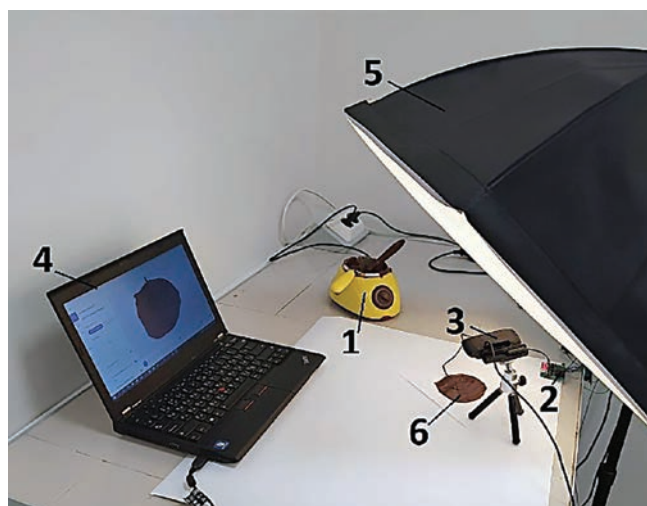
### Оборудование

Для проведения практических экспериментов нами была собрана лабораторная установка, представленная на Рисунке 1.

Для нагрева сырья (6) использовалась водяная баня (1). Для измерения температуры применялся электронный термометр (2) с ценой деления 0.1 °С. Для фиксации видеопотока была использована камера «Logitech c922 pro stream» (3). При помощи ноутбука (4) происходила запись и обработка данных. В качестве источника света поочередно были использованы светодиодные лампы мощностью 5 Ватт и цветовой температурой равной 3000К, 4000К и 5000К, а также был использован свет рассеиватель (5).

### Рисунок 1

Сборка лабораторного оборудования для проведения эксперимента



## Методы и инструменты

Была проведена серия практических экспериментов, предварительная чистка данных и анализ результатов, представленных в виде графиков. Для получения и обработки первичных данных было использовано вспомогательное программное обеспечение на основе библиотеки OpenCV для того, чтобы выделить 3 цветовых составляющих (Red, Green, Blue) в цветовом RGB пространстве, из общего кадра с охлаждаемым сырьём. В режиме реального времени происходило измерение этих составляющих с частотой 30 кадров в секунду. Численные значения параметров цветности, текущая температура и время записывались в базу данных на протяжении каждого эксперимента. По достижении шоколадом твёрдой фазы, проведение текущего эксперимента завершалось, менялись условия и проводился следующий.

## Процедура исследования

В ходе эксперимента сырьё нагревалось до температуры 40 °С, тщательно перемешивалось, а затем проходило его естественное охлаждение при комнатной температуре под объективом камеры, которая фиксировала его оттенок. Масса остужаемого материала в данном эксперименте значение не имеет, и влияет только на длительность застывания. Температура, при которой начиналась запись видеоряда, составляла 25 °С для шоколада и 38 °С — для глазури. Параллельно с этим устанавливался секундомер, показывающий время, прошедшее с начала эксперимента естественного охлаждения, и термометр, показывающий текущую температуру шоколадной массы. Для чистоты эксперимента освещение в помещении должно отвечать нескольким критериям. Во-первых, оно должно быть рассеянным, так как точечные источники света создавали блики на поверхности шоколадной массы. Во-вторых, необходимо использование источников света с разной цветовой температурой (от 3000K до 5000K) для того, чтобы отметить существует ли зависимость между выбранным источником света и качеством полученных данных о цветности шоколада. Всего было поставлено около 10 экспериментов, 5 из которых были обработаны, рассчитаны и использованы для дальнейшего изучения.

## Анализ данных

Для того чтобы зафиксировать изменения оттенка сырья от его агрегатного состояния, были построены графики зависимости цветности шоколада и температуры от времени для каждого эксперимента. Полученные данные обрабатывались в программе MS Excel. Исходное количество данных о цветности было эквивалентно числу кадров видеопотока (30 кад/сек) и было слишком избыточным для нашего эксперимента. Поэтому оно было уменьшено до 1 кадра в секунду, путём нахождения средних значений. Затем была построена сводная таблица, со столбцами «Время, параметры цветности R, G, B и температура» (Таблица 1), графики изменения температуры от времени и графики, отражающие изменения цветности шоколада в зависимости от времени для каждого из цветовых каналов. Каждый цветовой канал может принимать значения в диапазоне от 0 до 1, в зависимости от интенсивности спектра.

**Таблица 1**

Необработанные данные, получаемые в ходе одного эксперимента

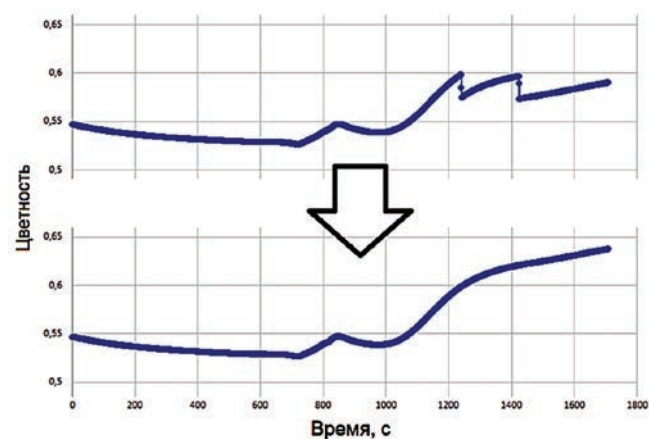
Время (сек)	R	G	B	Температура
1	0,5089	0,451497	0,424007	42,5
2	0,508909	0,451515	0,424083	42,5
3	0,508817	0,451384	0,423947	42,5
..	..	..	..	..
2027	0,557960	0,523861	0,509077	25,2

После этого данные экспериментов были проанализированы на наличие «выбросов». Они возникали при изменении окружающих условий, например, при резком изменении освещения в комнате или при возникновении тени во всём кадре. Выбросы характерны тем, что происходят сразу во всех цветовых спектрах одновременно. Для получения сглаженных графиков была проведена чистка данных (Рисунок 2). В результате чего удалось получить финальные графики зависимости изменения цветности от температуры, которые отражают ключевую информацию.

Стоит отметить, что практически в половине результатов поставленных экспериментов присутствовали выбросы.

Рисунок 2

Чистка данных от выбросов



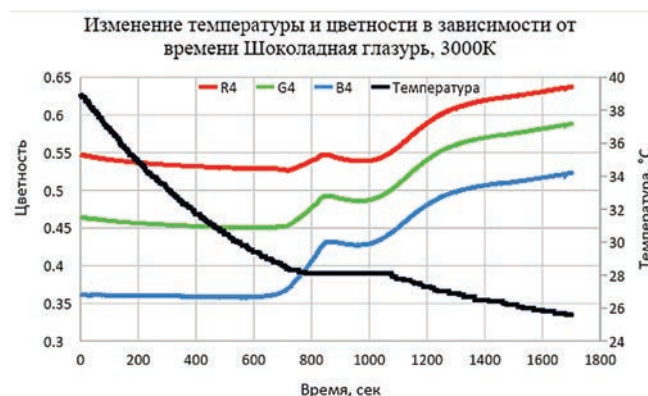
Для дальнейшего анализа графики зависимости цветности от температуры по каждому из цветовых каналов были сведены в общий график для каждого эксперимента. Это позволило выявить наиболее информативный «амплитудный» цветовой канал. Таким образом были обработаны данные со всех экспериментов. Сведённые графики используются для дальнейшей демонстрации результатов экспериментов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Чтобы подтвердить или опровергнуть гипотезу о том, что при помощи системы технического зрения возможно оценить состояние шоколадной массы, ориентируясь на изменение её оттенка, необходимо наглядное представление результатов измерений параметров цветности сырья с течением времени в виде графиков. Далее необходимо провести визуальный анализ графиков и сопоста-

Рисунок 3

Глазурь, 3000K



вить значения температуры и цветности. В сводной Таблице 2 представлена информация о материалах и условиях освещения для серии проведённых экспериментов. Для каждого эксперимента были построены графики зависимости цветности и температуры от времени охлаждения. Для наглядности на графиках синими вертикальными линиями были отмечены периоды времени начала и конца отверждения, наблюдаемые в ходе эксперимента. Визуальный анализ графиков позволит обнаружить зависимость цветности шоколадной массы от её температуры или опровергнет выдвинутую гипотезу.

По полученным данным были построены графики изменения температуры и цветности в зависимости от времени для каждого эксперимента и представлены на Рисунках 3, 4, 5, 6, 7. Сведение на графике значений цветности по всем каналам (RGB) позволяет сопоставить время начала и завершения кристаллизации с изменениями, которые происхо-

Таблица 2

Основная информация о проведённых экспериментах

№	Материал	Цветовая температура, °K	Т. начала крист., °C	Время отверждения, сек.
1	Шоколадная глазурь «Belgostar»	3000	28,1	296
2	Шоколадная глазурь «Belgostar»	4000	28,4	227
3	Шоколадная глазурь «Belgostar»	5000	28,3	189
4	Шоколад «Callebaut» не темперированный	3000	24,1	283
5	Шоколад «Callebaut» не темперированный	5000	23,1	749



Рисунок 4

Глазурь, 4000K

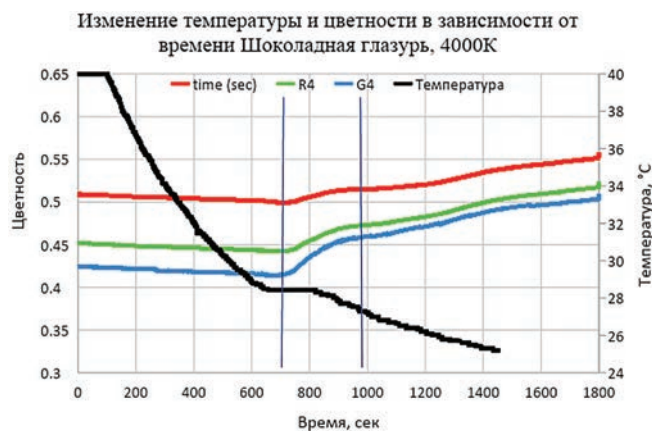


Рисунок 5

Глазурь, 5000K

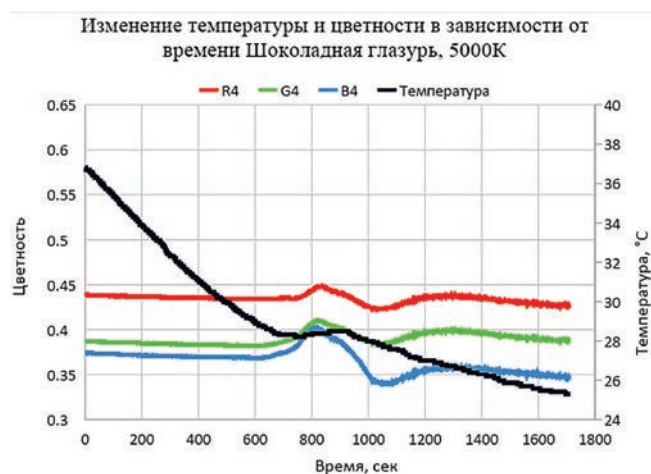


Рисунок 6

Шоколад, 3000K

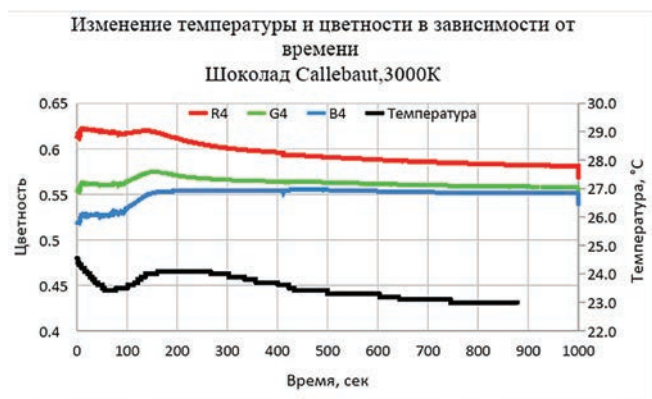
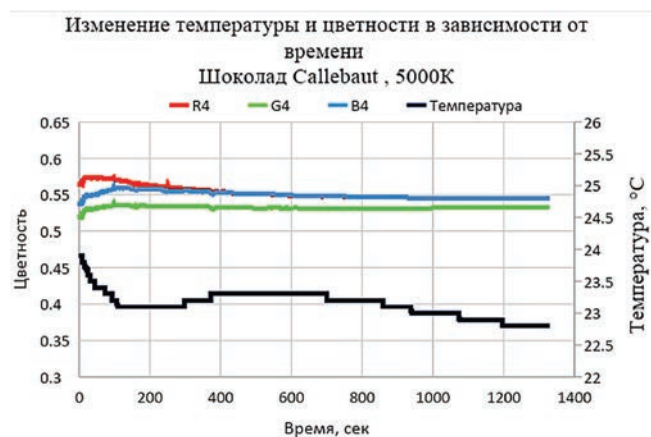


Рисунок 7

Шоколад, 5000K



дят на каждом цветовом канале. Это необходимо для анализа полученных результатов и обнаружения взаимосвязей.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Для выявления зависимости графиков цветности от изменения температуры и состояния сырья стоит обратить внимание на его кривые охлаждения. На каждой кривой охлаждения (график температуры) шоколада и глазури присутствуют «ступеньки» или нехарактерные колебания, характеризующие переходный процесс из одного фазового состояния в другое. В этот период времени происходит кристаллизация, а температура остаётся постоянной,

пока не застынет весь материал. После этого падение температуры возобновляется.

Следовательно, в области расположенной левее «ступени» на кривой охлаждения, материал находится в жидком состоянии, а в области, расположенной правее — в твёрдом (Рисунок 3). Таким образом, задача визуального контроля, заключающаяся в определении агрегатного состояния материала, может быть сведена к определению точки начала процесса кристаллизации.

Визуальный анализ графиков изменения цветности показывает, что во всех экспериментах присутствуют аномальные участки, на которых кривые резко меняют свой тренд или скорость нарастания. Сини-

ми вертикальными линиями обозначены фактические периоды начала и окончания отверждения сырья, наблюдаемые оператором в ходе проведения эксперимента.

На примере графиков охлаждения шоколадной глазури (Рисунки 3, 4, 5) и шоколада (Рисунок 6) отчётливо видно совпадение длительности и времени нахождения сырья в переходном процессе с изменениями на графиках цветности.

Критические температурные точки начала кристаллизации практически совпадают с критическими точками изменения цветности и характеризуют переходный процесс кристаллизации. Стоит отметить, что присутствует явное отставание (запаздывание) графика температуры от графика цветности по времени. Это связано с тем, что кристаллизация на поверхности сырья начинается раньше из-за наличия теплоотвода в окружающую среду (воздух) и только потом кристаллизуется внутри. Так как камера фиксирует состояние поверхности, а датчик, контролирующий температуру расположен в толще материала, возникает небольшой сдвиг по времени между кривыми.

В процессе 3D печати необходимо контролировать состояние поверхности нанесённого слоя, а его суммарная толщина составляет порядка 0.2–0.4 мм, что в десятки раз меньше, толщины слоя, используемого в эксперименте, поэтому временной задержкой, полученной в эксперименте, можно пренебречь.

Опираясь на обработанный сигнал с WEB камеры, представленный в виде последовательности изменяющихся значений цветности RGB, возможно распознать момент начала процесса кристаллизации на поверхности сырья, путём нахождения аномалий в полученном временном ряду.

Согласно графикам, наибольшее изменение цветности шоколадной глазури и шоколада наблюдается при освещении с цветовой температурой 3000K. Кривые изменения цветности имеют наибольшую амплитуду на первом графике для шоколадной глазури (Рисунок 3) и на четвёртом графике для шоколада (Рисунок 6). Наиболее информативным оказался цветовой канал «В», так как имеет наибольшую амплитуду изменения во всех экспериментах как для глазури, так и для шоколада.

Эффективность подхода определения признаков и свойств сырья при помощи цветных изображений также отмечена в исследовании Oliveira et al. (2021), обосновавшими возможность предсказания степень ферментации какао-бобов при помощи анализа цифровых изображений в RGB цветовом пространстве и оценки их цветности. Авторы рассматривают этот метод, как более дешёвую альтернативу гиперспектральной визуализации, рассматриваемой ранее Cruz-Tirado et al. (2020). Lopes et al. (2022) провели визуальную оценку какао бобов в HSV цветовом пространстве, заявив, что особенности оттенка, его насыщенность и интенсивность также являются надёжными параметрами для идентификации какао-бобов, так как динамика процесса сушки постоянна и всегда связана с каждым сортом какао.

## ВЫВОДЫ

Полученные результаты дают основание полагать об эффективности применения СТЗ для оценки состояния и свойств сырья. Гипотеза о том, что агрегатное состояние шоколадной массы влияет на параметры цветности и его оттенок подтвердилось экспериментально. При помощи WEB — камеры были зафиксированы изменения цветности по каналам «R», «G», «B», которые изменялись в зависимости от температуры сырья в течение всего эксперимента.

Визуальный анализ графиков показал, что в каждом из экспериментов существует резкое нехарактерное изменение параметров цветности, совпадающее с началом процесса кристаллизации шоколадной массы. Были определены оптимальные условия для проведения визуальной оценки состояния шоколада. Наиболее информативным, применительно к шоколаду и шоколадной глазури оказался временной ряд «В», так как он имел наибольшую амплитуду изменения для каждого из экспериментов. Самым подходящим для оценки стало тёплое освещение (цветовая температура 3000K), которое также увеличивало амплитуду всех каналов в каждом эксперименте.

Определение текущего агрегатного состояния нанесённой шоколадной массы при помощи СТЗ, во время процесса 3D печати, необходимо для автоматизированного подбора оптимальной скоро-

сти нанесения сырья. Исследование представлено, как один из этапов разработки системы автоматизированного контроля и управления за процессом пищевой 3D печати шоколадных изделий. Дальнейшие исследования будут направлены на оценку состояния темперированного шоколада, а также мясного и мучного сырья. Это позволит расширить список ингредиентов, используемых в процессе пищевой 3D печати, состояние которых возможно контролировать с применением систем технического зрения.

## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Эдуард Шибанов:** концептуализация, методология, проведение исследования, создание рукописи и её редактирование.

**Иван Благовещенский:** разработка программного обеспечения, руководство исследованием.

**Евгений Назойкин:** формальный анализ, визуализация.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Аднодворцев, А.М., Благовещенский, И.Г., Благовещенский, В.Г., Носенко, А.С., Веселов, М.В., & Нгонганг, Р.Д. (2022). Создание интеллектуальных систем принятия решений на базе технологии сверточных нейронных сетей. В *Фабрика будущего* (с. 25–32). ЗАО «Университетская книга».
- Adnodvortsev, A.M., Blagoveshchensky, I.G., Blagoveshchensky, V.G., Nosenko, A.S., Veselov, M.V., & Ngongang, R.D. (2022). Creation of intelligent decision-making systems based on convolutional neural network technology. In *Factory of the Future* (pp. 25–32). ZAO «Universitetskaya kniga.» (In Russ.)
- Благовещенский, И.Г., Благовещенский, В.Г., Савостин, С.Д., & Кучумов, А.В. (2022). Интеллектуальная система мониторинга технологических процессов производства продуктов на пищевых предприятиях. В *Информатизация и автоматизация в пищевой промышленности* (с. 119–126). ЗАО «Университетская книга».
- Blagoveshchensky, I.G., Blagoveshchensky, V.G., Savostin, S.D., & Kuchumov, A.V. (2022). Intelligent monitoring system for technological processes of food production at food enterprises. In *Informatization and Automation in the Food Industry* (pp. 119–126). ZAO «Universitetskaya kniga.» (In Russ.)
- Благовещенский, И.Г., Благовещенский, В.Г., Головин, В.В., & Аднодворцев, А.М. (2022). Интеллектуальная оптимизация производства на основе использования инновационных продуктов и технологий. В *Информатизация и автоматизация в пищевой промышленности* (с. 140–144). ЗАО «Университетская книга».
- Blagoveshchensky, I.G., Blagoveshchensky, V.G., Golovin, V.V., & Adnodvortsev, A.M. (2022). Intellectual optimization of production based on the use of innovative products and technologies. In *Informatization and Automation in the Food Industry* (pp. 140–144). ZAO «Universitetskaya kniga.» (In Russ.)
- Благовещенский, И.Г., Благовещенский, В.Г., Шибанов, Э.Д., & Загородников, К.А. (2020). Оптимизация 3D печати на примере использования шоколадной глазури. *Пищевая промышленность*, (12), 70–73. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10147>
- Blagoveshchensky, I.G., Blagoveshchensky, V.G., Shibano, E.D., & Zagorodnikov, K.A. (2020). Optimization of 3D printing using chocolate glaze as an example. *Food Industry*, (12), 70–73. (In Russ.) <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10147>
- Благовещенский, И. Г., Носенко, С. М., & Носенко, А. С. (2015). Экспертная интеллектуальная система мониторинга процесса формирования помадных конфет с использованием системы технического зрения. *Пищевая Промышленность*, (6), 26–30.
- Blagoveshchensky, I.G., Nosenko, S.M., & Nosenko, A.S. (2015). Expert intelligent monitoring system for the process of forming fondant candies using a technical vision system. *Food Industry*, (6), 26–30. (In Russ.)
- Мартеха, А. Н., & Андреев, В.Н. (2021). Оптимизация 3D-печати шоколадной массы путем корреляции реологических свойств с 3D-моделированием структуры. В *Наука, технологии, кадры — основы достижений прорывных результатов в АПК* (с. 571–578). Татарский институт переподготовки кадров агробизнеса.
- Martekha, A.N., & Andreev, V.N. (2021). Optimization of 3D printing of chocolate mass by correlating rheological properties with 3D modeling of the structure. In *Science, Technologies, Personnel — the Basis for Achieving Breakthrough Results in the Agricultural Sector* (pp. 571–578). Tatar Institute for the Retraining of Agribusiness Personnel. (In Russ.)
- Петряков, А.Н., Благовещенская, М.М., Благовещенский, В.Г., & Крылова, Л.А. (2018). Применение методов объектно-ориентированного программирования для контроля показателей качества кондитерской продукции. *Кондитерское и хлебопекарное производство*, 176 (5–6), 21–23.
- Petryakov, A.N., Blagoveshchenskaya, M.M., Blagoveshchensky, V.G., & Krylova, L.A. (2018). Application of object-oriented programming methods for quality control of confectionery products. *Confectionery and Bakery Production*, 176 (5–6), 21–23. (In Russ.)



- Ребус, Н.А., & Благовещенский, И.Г. (2022). Проблемы внедрения интеллектуальных систем на предприятии. В *Фабрика будущего* (с. 271–277). ЗАО «Университетская книга».
- Rebus, N.A., & Blagoveshchensky, I.G. (2022). Problems of implementing intelligent systems in the enterprise. In *Factory of the Future* (pp. 271–277). ZAO «Universitetskaya kniga.» (In Russ.)
- Семенов, А. С., Максимов А.С., Бесфамильная Е.М., & Талмазова Д.В. (2021). Технологии 3D-печати в пищевой промышленности. *Молодой ученый*, 21(363), 41–43.
- Semenov, A. S., Maksimov, A.S., Besfamilnaya, E.M., & Talmazova, D.V. (2021). 3D printing technologies in the food industry. *Young Scientist*, 21(363), 41–43. (In Russ.)
- Скоморохова, А. И., Родионов, Ю. В., Безбородова, М. В., & Данилин, С. И. (2021). Производство сувенирного шоколада с применением аддитивных технологий. В *Развитие сервисной деятельности в условиях цифровизации экономики* (с. 164–166). НГИЭУ.
- Skomorokhova, A. I., Rodionov, Yu. V., Bezborodova, M. V., & Danilin, S. I. (2021). Production of souvenir chocolate using additive technologies. In *Development of Service Activities in the Context of the Digitalization of the Economy* (pp. 164–166). NGIEU. (In Russ.)
- Agarwal, T., Costantini, & M., Maiti, T. K. (2021). Extrusion 3D printing with pectin-based ink formulations: recent trends in tissue engineering and food manufacturing. *Biomedical Engineering Advances*, 2, 100018. <https://doi.org/10.1016/j.bea.2021.100018>
- Chachlioutaki, K., Karavasili, C., Mavrokefalou, E.E., Gioumouxouzis, C.I., Ritzoulis, C., & Fatouros, D.G. (2022). Quality control evaluation of paediatric chocolate-based dosage forms: 3d printing vs mold-casting method. *International Journal of Pharmaceutics*, 624, 121991. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121991>
- Cruz-Tirado, J. P., Pierna, J. A. F., Rogez, H., Barbin, D. F., & Baeten, V. (2020). Authentication of cocoa (theobroma cacao) bean hybrids by nir-hyperspectral imaging and chemometrics. *Food Control*, 118, 107445. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107445>
- Eswaran, H., Ponnuswamy, R. D., & Kannapan, R. P. (2023). Perspective approaches of 3D printed stuffs for personalized nutrition: A comprehensive review. *Annals of 3D Printed Medicine*, 100125. <https://doi.org/10.1016/j.stlm.2023.100125>
- Godoi, F. C., Prakash, S., & Bhandari, B. R. (2016). 3D printing technologies applied for food design: Status and prospects. *Journal of Food Engineering*, 179, 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.01.025>
- Holzmond, O., & Li, X. (2017). In situ real time defect detection of 3D printed parts. *Additive Manufacturing*, 17, 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2017.08.003>
- Izdebska, J., & Zołek-Tryznowska, Z. (2016). 3D food printing — Facts and future. *Agro Food Industry Hi Tech*, 27(2), 33–37.
- Karavasili, C., Gkaragkounis, A., Moschakis, T., Ritzoulis, & C., Fatouros, D. G. (2020). Pediatric-friendly chocolate-based dosage forms for the oral administration of both hydrophilic and lipophilic drugs fabricated with extrusion-based 3D printing. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 147, 105291. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105291>
- Lafeber, I., Tichem, J.M., Ouwerkerk, N., van Unen, A.D., van Uitert, J.J.D., Bijleveld-Olierook, H.C.M., Kweekel, D.M., Zaal, W.M., Le Brun, P.P.H., Guchelaar, H.J., & Schimmel, K.J.M. (2021). 3D printed furosemide and sildenafil tablets: Innovative production and quality control. *International Journal of Pharmaceutics*, 603, 120694. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120694>
- Lanaro, M., Desselle, M. R., & Woodruff, M. A. (2019). 3D Printing Chocolate. In *Fundamentals of 3D food printing and applications* (pp. 151–173). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814564-7.00006-7>
- Lanaro, M., Forrestal, D. P., Scheurer, S., Slinger, D. J., Liao, S., Powell, S. K., Woodruff, M. A. (2017). 3D printing complex chocolate objects: Platform design, optimization and evaluation. *Journal of Food Engineering*, 215, 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.06.029>
- Lopes, J. F., da Costa, V. G. T., Barbin, D. F., Cruz-Tirado, L. J. P., Baeten, V., & Barbon Junior, S. (2022). Deep computer vision system for cocoa classification. *Multimedia Tools and Applications*, 81(28), 41059–41077. <https://doi.org/10.1007/s11042-022-13097-3>
- Ma, Y., & Zhang, L. (2022). Formulated food inks for extrusion-based 3D printing of personalized foods: A mini review. *Current opinion in food science*, 44, 100803. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.12.012>
- Mantihal, S., Prakash, S., Godoi, F. C., & Bhandari, B. (2017). Optimization of chocolate 3D printing by correlating thermal and flow properties with 3D structure modeling. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 44, 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.012>
- Mohapatra, S., Kar, R. K., Biswal, P. K., & Bindhani, S. (2022). Approaches of 3D printing in current drug delivery. *Sensors International*, 3, 100146. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2021.100146>
- Nuchitprasitchai, S., Roggemann, M., & Pearce, J. (2017). Three hundred and sixty degree real-time monitoring of 3-D printing using computer analysis of two camera views. *Journal of Manufacturing and Materials Processing*, 1(1). <https://doi.org/10.3390/jmmp1010002>
- Oliveira, M. M., Cerqueira, B. V., Barbon Jr, S., & Barbin, D. F. (2021). Classification of fermented cocoa beans (cut test) using computer vision. *Journal of Food Composition and Analysis*, 97, 103771. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103771>
- Oral, M. O., Derossi, A., Caporizzi, R., & Severini, C. (2021). Analyzing the most promising innovations in food printing. Programmable food texture and 4D foods. *Future Foods*, 4, 100093. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100093>
- Outrequin, T. C. R., Gamonpilas, C., Siriawatwechakul, W., & Sreearunothai, P. (2022). Extrusion-based 3d printing of food biopolymers: A highlight on the important rheological parameters to reach printability. *Journal of Food Engineering*, 342, 111371. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111371>



- Rando, P., & Ramaioli, M. (2021). Food 3D printing: Effect of heat transfer on print stability of chocolate. *Journal of Food Engineering*, 294, 110415. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110415>
- Soni, R., Ponappa, K., & Tandon, P. (2022). A review on customized food fabrication process using food layered manufacturing. *LWT*, 161, 113411. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113411>
- Straub, J. (2015). Initial work on the characterization of additive manufacturing (3D printing) using software image analysis. *Machines*, 3(2), 55–71. <https://doi.org/10.3390/machines3020055>
- Tamir, T. S., Xiong, G., Shen, Z., Leng, J., Fang, Q., Yang, Y., Jiang J., Lodhi E., & Wang, F. Y. (2023). 3D printing in materials manufacturing industry: A realm of industry 4.0. *Heliyon*. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19689>
- You, S., Huang, Q., & Lu, X. (2023). Development of fat-reduced 3d printed chocolate by substituting cocoa butter with water-in-oil emulsions. *Food Hydrocolloids*, 135, 108114. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108114>
- Zhu, S., Wang, W., Stieger, M., van der Goot, A. J., & Schutyser, M. A. (2022). Shear-induced structuring of phase-separated sodium caseinate-sodium alginate blends using extrusion-based 3d printing: Creation of anisotropic aligned micron-size fibrous structures and macroscale filament bundles. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 81, 103146. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103146>

УДК 664

# Перспективы использования сывороточного изолята в технологии сухих смесей для специализированного питания

Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Российская Федерация

**КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:****Тамара Алексеевна Сенотрусова**

E-mail: toma.1107@mail.ru

**ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:**

данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:**

Сенотрусова, Т.А., Ершова, Т.А., Ли, Н.Г., Лях, В.А., & Медведев, Г.В. (2023). Перспективы использования сывороточного изолята в технологии сухих смесей для специализированного питания. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 125–134. <https://doi.org/10.36107/spfr.2023.4.441>

**ПОСТУПИЛА:** 03.07.2023**ПРИНЯТА:** 15.12.2023**ОПУБЛИКОВАНА:** 30.12.2023**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:**

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

**АННОТАЦИЯ**

**Введение:** В современном мире ключевым направлением здравоохранения является поддержка общего здоровья населения, особенно в области предотвращения пищевых заболеваний. В диетологии, при коррекции пищевых рационов для людей, подверженных интенсивным физическим нагрузкам, активно используются сухие белковые смеси, обладающие высокой биологической ценностью. Изолят сывороточного белка, благодаря сбалансированному аминокислотному составу и легкой усвояемости, идеально подходит в качестве основы для таких смесей. Разработка собственных технологий производства специализированных продуктов, включая сухие смеси, является важным шагом в этом направлении.

**Цель:** Рассмотреть перспективы использования сывороточного изолята, полученного с помощью отечественной технологии.

**Материалы и методы:** Изучили качественный и количественный анализ аминокислот опытного и контрольного образцов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и осуществили оценку их биологической ценности. Опытным образцом являлся изолят сывороточного белка (СТО ДВФУ 02067942-014-2019), особенностью технологии получения, которого являются усовершенствованные технологические режимы и ультрафильтрация. В качестве контрольного образца применяли изолят сывороточного белка (Pure Iso Whey, VP Laboratory, Великобритания), полученный по стандартной технологии с помощью микро- и ультрафильтрации. Опытный образец: изолят сывороточного белка СТО ДВФУ 02067942-014-2019, полученный с помощью ультрафильтрации. В качестве контрольного образца использовали изолят сывороточного белка (Pure Iso Whey, VP Laboratory, Великобритания), полученный с помощью микро- и ультрафильтрации.

**Результаты и их обсуждение:** Опытный образец изолята сывороточного белка не отличается от контрольного (промышленного) образца по содержанию незаменимых аминокислот и в некоторых случаях его превосходит. В опытном образце наблюдается высокое содержание аминокислот с разветвленными боковыми цепями – валин, лейцин и изолейцин, которые поддерживают нормальный обмен веществ в мышцах, головном и спинном мозге, нормальное течение регенерации и процесс азотистого баланса в организме, а также данные аминокислоты используются мышцами в качестве источника энергии. Отсюда, опытный образец изолята сывороточного белка может использоваться для производства сухих смесей специализированного назначения, в том числе для спортсменов и населения с повышенными физическими нагрузками.

**Выводы:** Получены данные об особенностях аминокислотного состава изолята сывороточного белка с помощью использования метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) – наблюдается увеличение содержания незаменимых аминокислот в опытном образце на 5 % по сравнению с контрольным, что может связано с щадящими режимами термической обработки в технологическом процессе.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА**

изолят сывороточного белка; аминокислотный состав; аминокислоты; специализированные продукты питания; сухие смеси

# Prospects of Using Whey Isolate in the Technology of Dry Mixes for Specialized Nutrition

Far Eastern Federal University,  
Vladivostok, Russian Federation

Tamara A. Senotrusova, Tatyana A. Ershova, Natalia G. Li,  
Vladimir A. Lyakh, Georgy V. Medvedev

## CORRESPONDENCE:

**Tamara Alekseevna Senotrusova**

E-mail: shibanoved@mgupp.ru

## DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

## FOR CITATIONS:

Senotrusova, T.A., Ershova, T.A., Li, N.G., Lyakh, V.A., & Medvedev, G.V. (2023). Prospects of using whey isolate in the technology of dry mixes for specialized nutrition. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 125 – 134. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.441>

RECEIVED: 03.07.2023

ACCEPTED: 15.12.2023

PUBLISHED: 30.12.2023

## DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.



## ABSTRACT

**Introduction:** In the modern world, a key direction of healthcare is the support of the general health of the population, especially in the area of preventing food-related diseases. In dietetics, when adjusting diets for people subjected to intense physical activity, dry protein mixes with high biological value are actively used. Whey protein isolate, due to its balanced amino acid composition and easy digestibility, is ideally suited as a base for such mixes. The development of own production technologies for specialized products, including dry mixes, is an important step in this direction.

**Purpose:** To explore the potential use of whey isolate obtained through domestic technology.

**Materials and Methods:** We conducted qualitative and quantitative amino acid analysis of experimental and control samples using high-performance liquid chromatography (HPLC). The experimental sample was a whey protein isolate (STO DVFU 02067942-014-2019), characterized by advanced technological regimes and ultrafiltration. The control sample was a whey protein isolate (Pure Iso Whey, VP Laboratory, UK), produced by standard technology using micro- and ultrafiltration.

**Results:** The experimental whey protein isolate sample showed no significant difference from the commercial (control) sample in terms of essential amino acid content and in some cases even surpassed it. The experimental sample exhibited a high content of branched-chain amino acids – valine, leucine, and isoleucine, which support normal metabolism in muscles, brain, and spinal cord, facilitate regeneration, and maintain nitrogen balance in the body. These amino acids are also used as an energy source by muscles. Therefore, the experimental whey protein isolate sample can be used to produce specialized dry mixtures, including for athletes and people with increased physical demands.

**Conclusion:** The study provides insights into the amino acid composition of whey protein isolate using high-performance liquid chromatography (HPLC), revealing a 5 % increase in essential amino acids in the experimental sample compared to the control. This increase may be attributed to the gentle thermal treatment regimes in the technological process.

## KEYWORDS

Whey protein isolate; amino acid composition; amino acids; specialized food products; dry mixes

## ВВЕДЕНИЕ

Одно из основных направлений реализации Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года<sup>1</sup> (далее — Стратегия) является разработка перспективных технологий для производства продуктов питания функционального и специализированного назначения, а также улучшение качества продукции, расширение ассортимента и обеспечение эффективности ее производства, в том числе Стратегия ориентирована на обеспечение профилактики заболеваний, увеличение продолжительности и повышение качества жизни населения, стимулирование развития производства и обращения на рынке пищевой продукции надлежащего качества.

Полноценное питание является особенно важным при лечении и реабилитации населения (Alex, 2022; Morgan-Bathke, 2023; Perugini, 2022). В связи с этим широкое распространение приобрело использование специализированных пищевых продуктов направленного действия — перорального энтерального питания, ассортимент и объем выпуска продукции, которого динамично развивается на международном и национальных уровнях. Искусственное питание может быть энтеральным и парентеральным. В ситуациях, когда работает желудочно-кишечный тракт, предпочтительнее использовать более физиологичное энтеральное питание. Энтеральное питание в последние десятилетия неуклонно внедряется в практику стационаров, хосписов, становится частью домашнего ухода. Это научно обоснованная система назначения питательных веществ (смесей), вводимых в желудок или тонкую кишку через назогастральный или назоеюнальный зонд, гастро-(энтеро)стому или методом сипинга (Alex, 2022; Morgan-Bathke, 2023; Perugini, 2022; Na, 2023; Xiaoshan, 2023).

Уже разработан целый ряд пищевых продуктов и рационов для питания отдельных групп населения (населения с различными заболеваниями, спортсменов, детей различного возраста, беременных и кормящих женщин, различных профессиональных групп рабочих промышленных предприятий и др.), объединенных в одну категорию — специализированное питание. Наиболее часто в качестве

основы сухих смесей для специализированного питания используют изоляты белков растительного или животного происхождения. К примеру, молочный белок сбалансирован по аминокислотному составу и является легкоусвояемым продуктом (Shufang, 2023; Kaili, 2023; Yichen, 2023; Kefan, 2023). В связи с этим наиболее часто используются сывороточные белки для получения сухих смесей. В настоящее время белки отделяются от молока с использованием различных химических и физических методов обработки. Выделение данных белков из молочных композиций является достаточно сложной задачей для исследователей и производителей, поскольку для сохранения активности белков, они не должны быть повреждены или денатурированы во время процесса очистки (Yong, 2023; Dharani, 2022; Mengyao, 2023; Guang-yao, 2023). В связи с этим следует избегать жестких условий обработки, таких как нагревание или длительное воздействие сильной кислоты. Изучены три основных свойства молока как пищевого продукта: легкую усвояемость, способность к возбуждению органов пищеварения и лучшее усвоение азота молока по сравнению с азотом других продуктов. Перевариваемость молока и молочных продуктов колеблется от 95 до 98 % (Xiangyu, 2022; Gessirin, 2022; Xin, 2022; Karoline, 2023).

Щадящие условия технологических режимов при производстве сывороточного изолята белка позволят сохранить уникальные свойства белков, входящих в состав молочных продуктов. Известно, что молоко обладает следующими свойствами: легкая усвояемость, способность к возбуждению органов пищеварения и лучшее усвоение азота молока по сравнению с азотом других продуктов. Перевариваемость молока и молочных продуктов колеблется от 95 до 98 % (Xiangyu, 2022; Gessirin, 2022; Xin, 2022; Karoline, 2023).

Белки молока рекомендуется применять в рациональном питании, важная роль в котором принадлежит белкам животного происхождения. По переваримости и сбалансированности аминокислотного состава белки молока относятся к наиболее биологически ценным, их усвояемость составляет от 96 до 98 %. Белки, входящие в состав молока, разнообразны по строению, физико-хи-

<sup>1</sup> Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года, утверждена распоряжением Правительства Российской Федерации от 29 июня 2016 года № 1364-п. <https://docs.cntd.ru/document/420363999>



мическим свойствам и биологическим функциям (Yue, 2023; Yun, 2023; Meng, 2023; Lili, 2023). Установлено, что растворимость в воде препаратов молочных белков зависит от способа их получения. Растворимость большинства концентратов сывороточных белков, полученных ультрафильтрацией, составляет около 90 % в интервале pH 3–8 (максимальная растворимость до 96 % наблюдается при pH 6,5) (Yue, 2023; Yun, 2023; Meng, 2023; Lili, 2023). Перспективным направлением в области производства продуктов переработки молока является усовершенствование технологии производства изолятов сывороточных белков, в том числе изучение особенностей их состава (Tomczyńska-Mleko, 2023; Mazza, 2023; Yao, 2023; Xiaoya, 2023; Yun, 2023).

В современных условиях санкционного режима сухие смеси импортного производства, которые составляют более 80 % рынка, перестали поставляться в РФ, или поставляются по высокой стоимости (Jinpeng, 2023; Kefan, 2022; Yong, 2023). Одни из перспективных, экономически приемлемых и научно обоснованных путей решения проблемы, связанной с коррекцией структуры питания, по мнению многих ученых и практиков в России и за рубежом, является производство и внедрение биологически активных добавок и пищевых функциональных ингредиентов, которые содержат в необходимом количестве комплекс веществ животного и растительного происхождения, необходимых организму. Исходя из этого усовершенствование технологий и разработка продуктов для специализированного питания в виде сухих обогащенных смесей является актуальной задачей.

**Целью** исследования явилось изучение особенностей аминокислотного состава изолята сывороточного белка (СТО ДВФУ 02067942–014-2019) для оценки его биологической ценности.

**Задачи исследования:** (1) осуществить качественный и количественный анализ аминокислот изолята сывороточного белка методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ); (2) сравнить качественный и количественный состав аминокислот опытного и контрольного образца.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объект исследования

*Изолят сывороточного белка  
СТО ДВФУ 02067942–014-2019*

Изолят сывороточного белка СТО ДВФУ 02067942–014-2019, полученный с помощью ультрафильтрации. Содержание белка в продукте 92 % (в сухом веществе). Технология получения сывороточного изолята включает концентрирование белков с помощью нагревания сыворотки до 85–88 °С и ультрафильтрации (размер пор мембран не более 0,1 мкм), далее осуществляли высушивание при температуре не более 50 °С до содержания влаги не более 10 %.

*Изолят сывороточного белка  
(Pure Iso Whey, VP Laboratory, Великобритания)*

В качестве контрольного образца использовали изолят сывороточного белка (Pure Iso Whey, VP Laboratory, Великобритания), полученный с помощью микро- и ультрафильтрации. Содержание белка в продукте 92 % (в сухом веществе). Технология получения сывороточного изолята включает концентрирование белков с помощью нагревания сыворотки до 90–95 °С, ультра- (размер пор мембран не более 0,1 мкм) и микрофильтрации (от 10 до 0,1 мкм), далее осуществляется высушивание.

### Оборудование

Для изучения аминокислотного состава применяли систему высокоэффективной жидкостной хроматографии LC-20 Prominence Shimadzu (Япония, 2011).

### Методы

Разделение, качественный и количественный анализ аминокислот сывороточного изолята определяли стандартным методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, используя методы, предложенные Li (2023) и Harun (2023).

## Процедура исследования

На первом этапе проводили подготовку образцов по методике, основанной на кислотном гидролизе пептидных связей белков. Далее осуществляли разделение полученных производных на высокоэффективном жидкостном хроматографе LC-20 Prominence Shimadzu. Предколоночная модификация производилась фталевым альдегидом (ФА-производные аминокислот). Неподвижная фаза: ультрасферы ODS, 5 мкм; Подвижная фаза: элюенты- тетрагидрофуран (ТГФ) / 0,05 М ацетат натрия (рН 6,6)/метанол. Хроматографирование проводили в линейно-ступенчатом, градиентном режиме, детектирование (флуоресцентный детектор) — при длине волны в пределах 330 нм. Количественное определение проводили с использованием метода абсолютной калибровки. После выполнения экспериментальной части работы проводили анализ и статистическую обработку полученных данных.

## Анализ данных

Расчет биологической ценности белков проводили по стандартной методике для анализа аминокислотного состава опытного и контрольного образцов, в том числе осуществили расчет индекса незаменимых аминокислот (ИНАК), следуя методологии, предложенной Meng (2023). Применяли статистический метод обработки экспериментальных данных, в ходе которого определяли среднее значение искомой величины при 3-х кратной повторности, а также среднеквадратическое отклонение и доверительный интервал при помощи MS Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В предыдущих исследованиях разработали технологию изготовления изолята сывороточного белка, предназначенного для использования в основе обогащенных сухих смесей<sup>2</sup>. Эта технология отличается применением мягких термических режимов обработки и ультрафильтрации. Полученный по этой технологии изолят (СТО ДВФУ 02067942–014-2019) представляет собой порошок светло-кремового цвета с характерным ароматом и вкусом, без примесей вкуса и запаха, при этом содержание влаги не пре-

вышает 10%. Сравнение органолептических характеристик и влажности опытного образца в текущем исследовании с контрольным показало их сходство.

В рамках оценки пищевой и биологической ценности изолята был проведен качественный и количественный анализ аминокислотного состава как опытного, так и контрольного образцов. Важным этапом исследования стало и определение индекса незаменимых аминокислот (ИНАК), который является комплексным индикатором, отражающим содержание всех незаменимых аминокислот в белке изучаемого продукта. Для «идеального белка» ИНАК составляет 1 (Meng, 2023). Результаты анализа аминокислотного состава и расчет аминокислотного сора представлены в Таблицах 1–3.

**Таблица 1**

Содержание аминокислот в изолятах сывороточного белка

Наименование аминокислот	Содержание, г/100 г (опытный образец)	Содержание, г/100 г (контрольный образец)
<i>Незаменимые</i>		
Валин	5,7 ± 0,13	5,9 ± 0,10
Изолейцин	6,5 ± 0,18	6,4 ± 0,18
Лейцин	10,9 ± 0,25	10,7 ± 0,21
Лизин	9,4 ± 0,31	9,7 ± 0,28
Метионин	2,3 ± 0,07	2,2 ± 0,13
Треонин	6,8 ± 0,17	6,6 ± 0,15
Триптофан	1,2 ± 0,02	1,3 ± 0,02
Фенилаланин	3,3 ± 0,05	2,9 ± 0,01
Сумма аминокислот	51,5	45,7
<i>Заменимые</i>		
Аланин	5,2 ± 0,19	5,0 ± 0,17
Аргинин	2,5 ± 0,03	2,1 ± 0,05
Аспарагиновая кислота	10,7 ± 0,27	11,1 ± 0,41
Гистидин	1,4 ± 0,01	1,7 ± 0,02
Глутаминовая кислота	18,5 ± 0,76	18,2 ± 0,63
Пролин	5,9 ± 0,04	5,5 ± 0,01
Серин	4,8 ± 0,15	4,6 ± 0,11
Тирозин	2,5 ± 0,01	2,6 ± 0,01
Гистидин	1,6 ± 0,06	1,7 ± 0,04
Сумма аминокислот	51,5	52,5
Общее содержание АК	99,2	98

<sup>2</sup> СТО ДВФУ 02067942–014-2019, Патент на изобретение RU 2799431 C1, 05.07.2023

Из данных Таблицы 1 следует, что опытный и контрольный образец содержат 8 незаменимых аминокислот для взрослого человека, содержание которых составило в пределах 50 % от общей суммы аминокислот. Аминокислотный состав опытного образца приближен к контрольному образцу, в опытном образце наблюдается более высокое содержание аминокислот по сравнению с контрольным — лейцин, треонин, фенилаланин, аланин, аргинин, глютаминовая кислота и серин. Увеличение массовой доли данных аминокислот наблюдается в пределах от 1,5 до 2 %, данное изменение быть связано с усовершенствованием технологических режимов при производстве изолята сывороточного белка.

Для оценки сбалансированности аминокислотного состава изолята сывороточного белка осуществили расчет аминокислотного сора, который представлен в Таблице 2 и 3.

Анализ опытного образца изолята сывороточного белка показывает, что его аминокислотный профиль близок к характеристикам «идеального белка». Особенно высокое содержание аминокислот

наблюдается у лизина (170,9 %) и треонина (170 %). Метионин (65 %) и фенилаланин (55 %) выступают в роли лимитирующих аминокислот, что, вероятно, обусловлено диетой сельскохозяйственных животных. При сопоставлении общего количества аминокислот в опытном образце изолята сывороточного белка (461 мг) с рекомендованными значениями ФАО/ВОЗ для «идеального белка» (360 мг), можно констатировать, что аминокислотный состав исследуемого образца превышает стандартные показатели на 22 %.

Из анализа данных, представленных в Таблице 3, следует, что аминокислотный состав контрольного образца изолята сывороточного белка приближается к стандартным параметрам «идеального белка». Особенно высокий аминокислотный индекс демонстрируют лизин (176,36 %) и треонин (165 %). В то же время метионин (62,86 %) и фенилаланин (48,33 %) являются лимитирующими аминокислотами, что может быть обусловлено особенностями питания сельскохозяйственных животных. При сравнении общего содержания аминокислот контрольного образца изолята (457 мг) с эталонными значениями ФАО/ВОЗ для «идеального белка»

Таблица 2

Результаты расчета аминокислотного сора (опытный образец)

Наименование аминокислоты	Шкала ФАО/ВОЗ (мг/1 г идеального белка) <sup>3</sup>	Содержание в образце, мг/1 г белка	Аминокислотный сора, %
Изолейцин	40	65 ± 0,13	162,50
Лизин	55	94 ± 0,06	170,91
Лейцин	70	109 ± 0,18	155,71
Метионин	35	23 ± 0,25	65,71
Фениланин	60	33 ± 0,31	55,00
Треонин	40	68 ± 0,07	170,00
Триптофан	10	12 ± 0,17	120,00
Валин	50	57 ± 0,02	114,00
Сумма аминокислот	360	461	—

Таблица 3

Результаты расчета аминокислотного сора (контрольный образец)

Наименование аминокислоты	Шкала ФАО/ВОЗ (мг/1 г идеального белка) <sup>4</sup>	Содержание в образце, мг/1 г белка	Аминокислотный сора, %
Изолейцин	40	64	160,00
Лизин	55	97	176,36
Лейцин	70	107	152,86
Метионин	35	22	62,86
Фениланин	60	29	48,33
Треонин	40	66	165,00
Триптофан	10	13	130,00
Валин	50	59	118,00
Сумма	360	457	—

<sup>3</sup> Protein and amino acid requirements in human nutrition: Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. WHO technical report series No. 935. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2007. — 265 p.

<sup>4</sup> Protein and amino acid requirements in human nutrition: Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. WHO technical report series No. 935. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2007. — 265 p.

(360 мг), контрольный образец превышает стандарт на 21 %. Индекс незаменимых аминокислот (ИНАК) для опытного образца составляет 1,9, а для контрольного — 1,8. Также отмечается увеличение содержания незаменимых аминокислот в продукте на 5 %, что может быть связано с более мягкими условиями термообработки в процессе его изготовления.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе проведенного исследования осуществлялся анализ аминокислотного состава разработанного изолята сывороточного белка (СТО ДВФУ 02067942–014-2019), применяя метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Исследование показало, что содержание незаменимых аминокислот в опытном образце сравнимо с контрольным и превосходит его на 5 % по некоторым показателям. Этот рост, вероятно, обусловлен усовершенствованными технологическими режимами тепловой обработки, как предполагает Salari (2020) в своем исследовании о влиянии мягких термических режимов на сохранение биологической ценности белков молока. В планах дальнейших исследований — определение наиболее эффективных технологических условий для увеличения биологической ценности изолята.

Исследования de Souza et al. (2018), Western et al. (2020) и Jinpeng (2022) подчеркивают значимость рациона питания сельскохозяйственных животных, особенно коров, для качества производимого ими молока. Это, в свою очередь, оказывает прямое влияние на характеристики получаемых из этого молока продуктов, включая изолят сывороточного белка. Рацион коров влияет на такие параметры молока, как его жирность, белковый состав, концентрацию витаминов и минералов, а также на наличие и пропорции различных аминокислот. К примеру, богатый на протеины и витамины рацион способен повысить уровень незаменимых аминокислот в молоке, что делает его более ценным для производства высококачественных изолятов сывороточного белка. И наоборот, дефицит определенных элементов в питании животных может привести к уменьшению питательной ценности молока и, как следствие, снижению качества изолята. Таким образом, подбор оптимального питания для сельскохозяйственных животных является ключе-

вым аспектом для обеспечения высокого качества сырья для производства изолятов сывороточного белка. Это подчеркивает необходимость интегрированного подхода в сельском хозяйстве, где внимание к деталям кормления животных напрямую влияет на качество конечной продукции пищевой промышленности.

Данное исследование подтвердило потенциал использования сывороточного изолята в производстве сухих смесей для специализированного питания, что актуально для различных групп населения. Авторы, такие как Alex (2022), Morgan-Bathke (2023) и Perugini (2022), также рассматривают использование сухих белковых смесей в диетах спортсменов и других категорий населения. В изоляте отмечается высокое содержание треонина (6,8 г), который, как указывают Xiaoya (2023), Na (2023) и Xiaoshan (2023), способствует восстановлению мышечной ткани и ускорению метаболических процессов.

Полученные данные о составе изолята сывороточного белка указывают на его широкие перспективы использования в пищевой промышленности, что находит отражение в работах исследователей, таких как Li (2023), изучающих аминокислотный профиль молочных белков. Так, уровень треонина в изоляте делает его ценным компонентом для продуктов спортивного питания, включая батончики, белковые смеси и коктейли. Исследование также выявило, что содержание таких аминокислот, как триптофан и валин, в опытном образце близко к «идеальному белку», что важно для метаболизма в организме человека, а триптофан участвует в синтезе серотонина и может использоваться в терапии психических расстройств. Таким образом, полученные данные подтверждают значительный потенциал изолята сывороточного белка для создания специализированных сухих смесей направленного действия, включая искусственное питание. На основе этих результатов можно рассмотреть возможности его использования для улучшения качества питания различных групп населения. Дальнейшие исследования по проблематике требуют изучения биологической ценности изолятов сывороточных белков, полученных из молочной продукции сельскохозяйственных животных с различными рационами для оценки влияния данного фактора на качество получаемой продукции.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования была достигнута поставленная цель, и получены данные о характеристиках аминокислотного состава изолята сывороточного белка. Был проведен анализ качественного и количественного состава аминокислот опытного и контрольного образцов. Опытный образец, разработанный в соответствии с новой технологией, показал содержание незаменимых аминокислот, сопоставимое с контрольным образцом. В нем отмечается увеличение уровня незаменимых аминокислот на 5% по сравнению с контрольным образцом, что, вероятно, связано с бережными режимами термической обработки в процессе производства. Учитывая это, использование полученного изолята сывороточного белка представляется перспективным для импортозамещения при создании сухих смесей специализированного питания.

В свете данных результатов, следующие исследования будут сосредоточены на определении оптимальных критериев качества исходного сырья для производства изолята сывороточного белка с высокой биологической ценностью.

## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Сенотрусова Тамара Алексеевна:** концептуализация, методология, руководство исследованием, создание рукописи и ее редактирование, выполнение исследования.

**Ершова Татьяна Анатольевна:** администрирование данных, верификация данных, создание рукописи и ее редактирование, выполнение исследования.

копии и ее редактирование, выполнение исследования.

**Ли Наталья Гаврошевна:** администрирование проекта, получение финансирования, создание черновика рукописи, выполнение исследования.

**Лях Владимир Алексеевич:** выполнение исследований, верификация данных, создание рукописи и ее редактирование, выполнение исследования.

**Медведев Георгий Валентинович:** выполнение исследования, создание черновика рукописи, визуализация.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена за счет средств федерального бюджета по государственному заданию Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в сфере научной деятельности, Дополнительное соглашение к Соглашению о предоставлении субсидии из федерального бюджета на финансовое обеспечение выполнения государственного задания на оказание государственных услуг (выполнение работ) от 11.11.2022 № 075–03–2022–114/7, проект № FZNS–2022–0012, тема проекта «Разработка отечественных технологий сухих смесей, обогащенных витаминными комплексами, омега жирными кислотами с пробиотической активностью для лечебного перорального питания, в т.ч. детей и больных стационаров совместно с R&D центром и на базе высокотехнологичного предприятия ООО «Арника».

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

- Alex, E.M., Cherine, H.G., Sikand, M., Rozga, L., Moloney, J., Sullivan, D., De, W., & Deepa, H. (2022). Effectiveness of medical nutrition therapy in the management of adult dyslipidemia: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Lipidology*, 16(5), 547–561. <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2022.06.008>
- Dharani, M., Karthiayani, A., Manoharan, A.P., & Sudha, K. (2022). Optimization and formulation of Conjugated Linoleic Acid (CLA) oil-in-water beverage emulsion stabilized in whey protein isolate using response surface methodology. *Food Chemistry Advances*, 1, 100109. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100109>
- Gessirin, S., Akkaratch, R., Sunee, N., & Pakamon, C. (2022). Microencapsulating role of whey protein isolate and sucrose in protecting the cell membrane and enhancing survival of probiotic lactobacilli strains during spray drying, storage, and simulated gastrointestinal passage. *Food Research International*, 159, 111651. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111651>
- Guang-yao, Z., Cong, S., Jing-ru, S., Wei-yi, J., Yue, T., Da-yong, Z., & Liang, S. (2023). Glycation of whey protein isolate and stachyose modulates their in vitro digestibility: Promising prebiotics as functional ingredients. *Food Bioscience*, 52, 102379. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102379>

- Jiale, Z., Weimin, L., Jingxin, G., Han, G., & Xueying, M. (2022). Limited hydrolysis as a strategy to improve the non-covalent interaction of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) with whey protein isolate near the isoelectric point. *Food Research International*, 161, 111847. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111847>
- Jinpeng, L., Jiajie, Y., Jinzhe, Li, Munkh-Amgalan, G., Xuan, W., Kwang-Chol, O., & Zhanmei, J. (2023). Structure and rheological properties of extruded whey protein isolate: Impact of inulin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 226, 1570–1578. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.11.268>
- Kaili, W., Xu, Z., Munkh-Amgalan, G., Jinzhe, L., Yuxuan, H., Narantuya, S., Tian, B., & Zhanmei, J. (2023). Extrusion of casein and whey protein isolate enhances anti-hardening and performance in high-protein nutrition bars. *Food Chemistry: X*, 18, 100719. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100719>
- Karoline, F., Silva, C., Suprani, M., Anderson, de F. J., Marali, V. D., & Fábio, A. M. (2023). Whey protein isolate and kraft lignin multifunctional films for potential food packaging application: UV block and antioxidant potential. *Food Bioscience*, 53, 102581. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102581>
- Kefan, O., Hexiang, X., Yufeng, W., Fangjian, N., Hua, X., & Qiang, Z. (2023) Color formation during the fibrillation of whey protein isolate: Maillard reaction and protein oxidation. *Food Hydrocolloids*, 142, 108819. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108819>
- Kefan, O., Hexiang, X., Yufeng, W., Meng, W.W., Qian, C., Sixing, L., Hua, X., & Qiang, Z. (2022). Whey protein isolate nanofibrils formed with phosphoric acid: Formation, structural characteristics, and emulsion stability. *Food Hydrocolloids*, 135, 108170. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108170>
- Li, Gao, Piao, Xu, & Jiaoyan, R. (2023). A sensitive and economical method for simultaneous determination of D/L- amino acids profile in foods by HPLC-UV: Application in fermented and unfermented foods discrimination. *Food Chemistry*, 410, 135382. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135382>
- Lili, T., Yrjö, H. R., & Song, M. (2023). Phase behavior and complex coacervation of whey protein isolate-Tremella fuciformis polysaccharide solution. *Food Hydrocolloids*, 143, 108871. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108871>
- Mazza, K.E.L., Costa, A.M.M., Silva, J.P., Lima, da A. D. S., Bizzo, H. R., & Tonon, R.V. (2023). Microencapsulation of marjoram essential oil as a food additive using sodium alginate and whey protein isolate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233, 123478. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123478>
- Meng, L., Jinzhe, L., Yuxuan, H., Zengli, G., Zhanmei, J., & Zhishen, M. (2023). Insight into comparison of binding interactions and biological activities of whey protein isolate exposed prior to two structurally different sterols. *Food Chemistry*, 405(A), 134827. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134827>
- Mengyao, L., Shan, Sh., Xin, G., Yudong, S., & Weihong, L. (2023). The effect of sweet tea polysaccharide on the physicochemical and structural properties of whey protein isolate gels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 240, 124344. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124344>
- Morgan-Bathke M., Raynor H.A., Baxter S. D., Halliday T. M., Lynch A., Neal M., Garay J.L., & Rozga M. (2023). Medical Nutrition Therapy Interventions Provided by Dietitians for Adult Overweight and Obesity Management: An Academy of Nutrition and Dietetics Evidence-Based Practice Guideline. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 123(3), 520–545.e10. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2022.11.014>
- Na, G., Shuang, Y., Ganghua, Z., Yimeng, Z.g, Fangyan, Z., Jingjing, X., Shenyu, P., Guilan, Z., & Ziyang, W. (2023). Effect of ultrasound treatment on interactions of whey protein isolate with rutin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 95, 106387. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106387>
- Perugini, M., Johnson, T.J., Beume, T.M., Dong, O.M., Guerino, J., Hao, H., Kerr, K, Kindilien, S., Nuijten, M., Ofili, T.U., Taylor, M., Wong A., & Freijer, K. (2022). Are We Ready for a New Approach to Comparing Coverage and Reimbursement Policies for Medical Nutrition in Key Markets: An ISPOR Special Interest Group Report. *Value in Health*, 25(5), 677–684. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2022.01.011>
- Salari, S., Jafari S.M. (2020) The influence of Ohmic heating on degradation of food bioactive ingredients. *Food Engineering Reviews*, 12, 191–208. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09217-0>
- Shufang, X., Gusonghan, M., Yuan, L., Yue, C., Mengting, G., Jianyun, H., Wei, T., & Ziyuan, L. (2023). Whey protein isolate attenuates depression-like behavior developed in a mouse model of breast tumor. *Food Research International*, 169, 112849. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112849>
- Souza, de J., Preseault C.L., Lock A.L. (2018) Altering the ratio of dietary palmitic, stearic, and oleic acids in diets with or without whole cottonseed affects nutrient digestibility, energy partitioning, and production responses of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101(1), 172–185. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13460>
- Tomczyńska-Mleko, M., Katsuyoshi, N., Mleko, S., Terpiłowski, K., & Pérez-Huertas, S. (2023). Cold gelation of whey protein isolate with sugars in an ultrasound environment. *Food Hydrocolloids*, 139, 108510. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108510>
- Western, M.M., Souza de J., Lock A.L. Effects of commercially available palmitic and stearic acid supplements on nutrient digestibility and production responses of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(6), 5131–5142. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17242>
- Xiangyu, L., Xiaoli, Q., Yonghua, W., & Jinfeng, Z. (2022). Physicochemical properties and formation mechanism of whey protein isolate-sodium alginate complexes: Experimental and computational study. *Food Hydrocolloids*, 131, 107786. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107786>
- Xiaoshan, W., Meihui, Z., Mengxue, G., Peng, L., Haohao, S., Xueying, Z., Zhongyuan, L., & Guanghua, X. (2023). Characterization of coacervation behavior between whey protein isolate and gum Arabic: Effects of

- heat treatment. *Food Chemistry: X*, 18, 100703. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100703>
- Xiaoya, T., Cheng, C., Yaochang, L., Xinguang, Q., Haizhi, Z., Yuanyuan, H., Zhengqi, L., Xiaoming, G., & Gang, L. (2023). Improving the antioxidant activity, in vitro digestibility and reducing the allergenicity of whey protein isolate by glycosylation with short-chain inulin and interaction with cyanidin-3-glucoside. *Food Hydrocolloids*, 139, 108586. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108586>
- Xin, L., Siqi, F., Zhuosui, H., Fangfang, N., Chengzhi, L., Min, H., Lei, C., Gerui, R., Xuan, Z., Qunfang, L., Wenjun, F., & Hujun, X. (2022). Preparation of alginate-whey protein isolate and alginate-pectin-whey protein isolate composites for protection and delivery of *Lactobacillus plantarum*. *Food Research International*, 161, 111794. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111794>
- Yao, M., Xiao, Z., Yunqing, J., Qingfeng, B., & Xibo, W. (2023). Effect of Maillard reaction conditions on the gelation and thermal stability of whey protein isolate/d-tagatose conjugates. *Food Chemistry*, 405(A), 134928. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134928>
- Yichen, L., Han, D., Yrjö, R., & Song, M. (2023). Binary complexes of whey protein fibers/isolates and fish gelatins for emulsion stabilization. *Food Hydrocolloids*, 143, 108880. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108880>
- Yong, C., Xi, C., Tian, Y., Zhaojun, W., Qiuming, C., Maomao, Z., Fang, Q., Jie, C., & Zhiyong, H. (2023). Effects of whey protein isolate and ferulic acid/phloridzin/naringin/cysteine on the thermal stability of mulberry anthocyanin extract at neutral pH. *Food Chemistry*, 425, 136494. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136494>
- Yong, C., Xi, C., Tian, Y., Zhaojun, W., Qiuming, C., Maomao, Z., Fang, Q., Jie, C., & Zhiyong, H. (2023). Storage stability and multi-spectroscopy analysis of the ternary complex induced by mulberry anthocyanin extract interacting with whey protein isolate and rutin under acidic conditions. *Food Hydrocolloids*, 143, 108911. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108911>
- Yue, Z., Zheng, Z., Yuan, F., Yawen, G., Wanchun, G., Ruifeng, H., & Xuejun, L. (2023). Effects of different pH on properties of heat-induced *Auricularia auricula-judae* polysaccharide-whey protein isolate composite gels. *Food Structure*, 36, 100317. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2023.100317>
- Yun, W., Cheng, Y., Jian, Z., & Lianfu, Z. (2023). Influence of rose anthocyanin extracts on physicochemical properties and in vitro digestibility of whey protein isolate sol/gel: Based on different pHs and protein concentrations. *Food Chemistry*, 405(B), 134937. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134937>
- Yun, J.K., Bum-Keun, K., & Min, H.L. (2023). Effect of small molecular surfactants on physical, turbidimetric, and rheological properties of Pickering nanoemulsions stabilized with whey protein isolate. *Food Bioscience*, 51, 102214. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102214>

УДК 663.367.2:664

# Характеристика приоритетных свойств узколистного люпина для использования в пищевой промышленности

ВНИИ люпина — филиал ВИК  
им. В.Р. Вильямса,  
пос. Мичуринский, Российская  
Федерация

**КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:**  
**Любовь Викторовна Коннова**  
E-mail: lykonnova@list.ru

**ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:**  
данные текущего исследования  
доступны по запросу  
у корреспондирующего автора.

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:**  
Коннова, Л., Агеева, П., & Трошина, Л. В.  
(2023). Характеристика приоритетных  
свойств узколистного люпина для  
использования в пищевой промыш-  
ленности. *Хранение и переработка  
сельхозсырья*, (4), 135–144. [https://doi.  
org/10.36107/spfp.2023.4.428](https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.428)

**ПОСТУПИЛА:** 23.05.2023

**ПРИНЯТА:** 15.12.2023

**ОПУБЛИКОВАНА:** 30.12.2023

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:**  
авторы сообщают об отсутствии  
конфликта интересов.



Л. В. Коннова, П. А. Агеева, Л. В. Трошина

## АННОТАЦИЯ

**Введение:** В современном питании человека часто преобладают насыщенные жиры, простые углеводы и соль, в то время как наблюдается дефицит белка, пищевых волокон и полиненасыщенных жирных кислот. Баланс химического состава ежедневного рациона является ключом к здоровому питанию. В этом контексте люпин узколистный может быть эффективным растительным источником белка. Этот вид люпина менее требователен к условиям произрастания по сравнению с другими однолетними видами, выращиваемыми в стране. Его устойчивость к различным климатическим условиям делает его подходящим для широкого использования. Разработка и применение сортов узколистного люпина с такими характеристиками предоставит производителям пищевых продуктов доступный источник белка.

**Цель:** Изучить характеристики перспективных сортов и сортообразцов узколистного люпина по содержанию сырого протеина (СП), жира, лизина, алкалоидов, урожайности зерна и выходу белка с единицы площади для возможного применения в производстве пищевых продуктов.

**Материалы и методы:** Представлены биохимические показатели зерна сортов и сортообразцов узколистного люпина собственной селекции за два года (2020–2021 гг.). Исследования проводились с помощью оборудования лаборатории ВНИИ люпина – филиала ФГБНУ «ФНЦ кормопроизводства и агроэкологии им. В.Р. Вильямса» с опорой на методы биохимического исследования растений и количественное определение алкалоидов в люпине.

**Результаты:** Зафиксировано высокое содержание белка (35 % и выше) и малоалкалоидность (не более 0,04 %) у большинства изученных образцов. Сбор белка с единицы площади составил > 10 ц/га. Выявленные различия изученных показателей связаны с генетическими особенностями представленных сортов и сортообразцов узколистного люпина.

**Выводы:** Определены перспективные образцы узколистного люпина, которые могут быть использованы для дальнейшей селекции с целью создания новых сортов – источников недорогого белкового сырья для пищевого производства.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

узколистный люпин; сырой протеин; урожайность зерна; сбор белка; алкалоиды; пищевая промышленность



# Characteristics of Priority Properties of Narrow-Leaf Lupine for Use in the Food Industry

The All-Russian Research Institute of Lupin – branch of the Federal Williams Research Center of Forage Production and Agroecology, Michurinsky, Russian Federation

## CORRESPONDENCE:

Lubov' V. Konnova

E-mail: lykonnova@list.ru

## DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

## FOR CITATIONS:

Konnova, L.V., Ageeva, P.A., & Troshina, L.V. (2023). Characteristics of priority properties of narrow-leaf lupine for use in the food industry. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 135–144. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.428>

RECEIVED: 23.05.2023

ACCEPTED: 15.12.2023

PUBLISHED: 30.12.2023

## DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.



Lubov' V. Konnova, Praskov'ya A. Ageeva, Larisa V. Troshina

## ABSTRACT

**Introduction:** In modern human diet, saturated fats, simple carbohydrates, and salt often predominate, while there is a deficit in protein, dietary fiber, and polyunsaturated fatty acids. Balancing the chemical composition of the daily diet is key to healthy nutrition. In this context, narrow-leaf lupine can be an effective plant source of protein. This type of lupine is less demanding in terms of growing conditions compared to other annual species cultivated in the country. Its resilience to various climatic conditions makes it suitable for widespread use. The development and application of narrow-leaf lupine varieties with such characteristics will provide food manufacturers with an affordable protein source.

**Purpose:** To study the characteristics of promising varieties and breeding samples of narrow-leaf lupine in terms of raw protein (RP) content, fat, lysine, alkaloids, grain yield, and protein yield per unit area for possible use in food production.

**Materials and Methods:** Biochemical indicators of grain of varieties and breeding samples of narrow-leaf lupine of our own selection are presented for two years (2020–2021). Research was conducted using equipment of the VNIIL laboratory – a branch of the FGBNU “V.R. Williams FNC Feed Production and Agroecology” based on plant biochemical research methods and quantitative determination of alkaloids in lupine.

**Results:** High protein content (35% and above) and low alkaloid content (no more than 0.04%) were recorded in most of the studied samples. Protein collection per unit area amounted to > 10 c/ha. The identified differences in the studied indicators are associated with the genetic characteristics of the presented varieties and breeding samples of narrow-leaf lupine.

**Conclusion:** Promising samples of narrow-leaf lupine have been identified, which can be used for further breeding to create new varieties – sources of inexpensive protein raw materials for the food industry.

## KEYWORDS

narrow-leaf lupine; raw protein; grain yield; protein collection; alkaloids; food industry

## ВВЕДЕНИЕ

Для функционирования всех жизненных процессов в пищевом рационе человека главенствующая роль отводится белкам. Белки — это дефицитный и дорогостоящий компонент питания. Соотношение белка животного и растительного происхождения должно составлять 50/50<sup>1</sup>. Поскольку производство животного белка требует значительных затрат, встаёт вопрос поиска альтернативного белка, в качестве которого выступает растительный белок. Наибольший интерес в данном случае вызывают зернобобовые культуры. Поскольку наблюдается ужесточение требований к использованию генетически модифицированных продуктов, источником которых является широко используемая соя, возрастает интерес к такой культуре как люпин (Гапонов, 2020; Руцкая и др., 2021; Тимошенко и др., 2022).

В отличие от соевого, люпиновый белок является экологически чистым сырьём для использования в пищевых продуктах, что, несомненно, важно для сохранения здоровья человека. В семенах люпина наблюдается высокое содержание белка (от 32,0 до 56,0%), что не уступает сое и значительно превосходит злаковые культуры (Глотова и др., 2019). В белке люпина отмечена высокая доля незаменимых аминокислот (лизин, валин, метионин, триптофан, фенилаланин), необходимых для здоровья человека (Панкина и др., 2015; Агафонова и др., 2019). Кроме того, семена люпина содержат много жира — важного источника энергии — (от 5,0 до 12,6%), богатого ненасыщенными кислотами и жирорастворимыми витаминами. Это токоферолы, стеролы, каротиноиды. По содержанию витаминов группы В, а также аскорбиновой кислоты, зерна люпина значительно опережают зерновые источники белка (пшеница, рожь) (Тарасенко и др., 2017). Существенным дополнением к плюсам люпина служит то факт, что производство 1 т белка люпина по затратам энергии дешевле в 1,5–2,0 раза по сравнению с другими зернобобовыми культурами и в 3,5–4,0 раза дешевле по сравнению со злаковыми зернофуражными культурами (Агеева и др., 2020). Это означает, что и с экономической точки зрения именно люпин выходит на первый план как среди бобовых, так и среди злаковых культур.

Перечисленные качества увеличивают ценность люпина с точки зрения его использования в пищевом производстве. В западных странах Европы, а также в Канаде, США, Чили и Австралии, начиная с конца XX века, ингредиенты семян люпина широко внедрены в пищевую промышленность (Sedláková et al., 2016). Наиболее активно в пищевом производстве используют муку люпина. Она обогащена лизином, которого мало в пшеничной муке, и, следовательно, может выступать как дополнительный ингредиент (Долгих, 2020). Кроме того, люпиновая мука увеличивает функциональность продуктов. Добавление ее в количестве 10% в хлебобулочные и макаронные изделия улучшает их текстуру, цвет, запах и увеличивает срок годности что, несомненно, важно для производителей. (Pollard et al., 2002).

В России уже представлены технологии производства паст и фаршей из зерна люпина (Нициевская и др., 2011; Криштафович, 2012; Панкина и др., 2015). Исследуется российскими учеными и влияние пищевых волокон из оболочки люпина на процесс пищеварения, в данном случае узколистного. Его оболочка служит источником пищевых волокон, который по запасам сырья не уступает наиболее используемым пшеничным отрубям и может выступать в качестве функциональных ингредиентов в мясных изделиях, а именно в рубленых полуфабрикатах из мяса птицы (Лахмоткина, 2011; Нионович и др., 2017; Хлопов, 2022).

Краеугольным камнем на пути внедрения люпина в пищевое производство являются алкалоиды. Это вторичные метаболиты, которые содержат в своей структуре азот. В растениях они присутствуют в виде солей минеральных кислот (чаще это карбоновые кислоты (щавелевая, яблочная, уксусная, лимонная) <sup>2</sup>(Панкина, 2015). Большинство алкалоидов имеет горький вкус, что отрицательно влияет на органолептические свойства и сдерживает применение люпина в производстве пищевых продуктов. К тому же алкалоиды весьма токсичны для человека и при достаточно высоких дозах могут навредить его здоровью (Frick et al., 2017). Поэтому вопрос выведения малоалкалоидных сортов люпина встает ещё острее.

<sup>1</sup> Скрипучин, И.М. и др. (2002). *Химический состав российских пищевых продуктов: Справочник*. М.: ДеЛипринт.

<sup>2</sup> Коваленко, Л.В. (2012) *Биохимические основы химии биологически активных веществ: Учебное пособие*, М.: БИНОМ. Лаборатория знаний.

Количество антипитательных веществ, к которым относятся алкалоиды, можно снизить предварительной обработкой семян. Например, это замачивание при температуре 17–20°C, кипячение в растворе поваренной соли (Мироненко, 1966). Однако это требует дополнительных затрат для производителей тех же пищевых производств. Выгоднее использовать малоалкалоидные сорта. В настоящее время проводятся многочисленные научные исследования, направленные на выведение таких сортов люпина, чтобы использовать их без вреда в производстве белковых люпиновых концентратов, применяемых в продуктах питания (Курчаева и др., 2011).

Российскими учеными уже разработаны технологии концентратов из зерна люпина, имеются рецептуры продуктов, обогащенных ими. С использованием белковых добавок производят обогащенные молочные и кисломолочные продукты, макаронные и мучные кондитерские изделия, белковые пасты (Тарасенко и др., 2017; Забодалова и др., 2012; Панкина и др., 2015). Однако, до сих пор люпин в нашей стране не получил должного внимания в промышленных масштабах в качестве источника белкового сырья для переработки на пищевые цели, поскольку до сих пор в России отсутствует пищевой ГОСТ на люпин. Производители пищевой продукции в Российской Федерации вынуждены для использования покупать зерно люпина за границей. Над решением этой проблемы активно работают сотрудники ВНИИ люпина Брянской области. Во внедрении люпина в пищевую промышленность заинтересованы как работники аграрного сектора, так и пищевого производства по всей России. Это существенно выгоднее, чем использование дорогостоящей модифицированной сои.

Алкалоидность люпина ВНИИ люпина также тщательно изучает. Были созданы высокопродуктивные, низкоалкалоидные сорта узколистного люпина: Снежень, Белорозовый 110, Надежда, Кристалл. Содержание алкалоидов в зерне данных сортов не превышает 0,04% (40 мг/100 г). Как известно, именно такие нормы предусмотрены для нашей страны в случае использования люпина, как источника сырья для пищевых целей. К тому же известно, что содержание алкалоидов в зерне узколистного люпина превышает допустимые нормы только при выращивании его в очень жарком климате (Купцов, & Такунов, 2006). Тогда, как

например, Брянская область не относится к таким регионам. Большинство регионов России также не отличаются высокими температурными значениями в вегетационный период. Доподлинно установлено, что именно узколистный люпин адаптирован к широкому спектру климатических условий и способен произрастать и вызревать как в центральных и северных районах Европейской части РФ, так и на Урале, и в Сибири (Вишнякова и др., 2020; Вишнякова и др., 2021). Именно этот люпин самый скороспелый, что также позволяет выращивать его в северных районах нашей страны. В зависимости от сорта продолжительность вегетационного периода колеблется от 75 до 100 дней. Суточная температура в период формирования вегетативных и генеративных органов составляет 17–20°C. Оптимальная сумма активных температур для созревания семян 1600–1650°C. Привлекательность узколистного люпина для использования в производстве связана с тем, что он отличается относительной устойчивостью к антракнозу.

Однако следует отметить, что сведений о пищевых свойствах семян данной культуры недостаточно, что и послужило причиной концентрации нашего внимания на этом вопросе.

**Цель исследования** — изучить характеристики перспективных сортов и сортообразцов узколистного люпина для возможного применения в производстве пищевых продуктов.

**Исследовательские вопросы:** В процессе исследования нас интересовали характеристики узколистного люпина, превращающие его как культуру пригодную для использования в качестве обогащения продуктов питания необходимыми свойствами, позволяющими сбалансировать рацион питания человека.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объекты исследования

В качестве объектов исследования выступали сорта и сортообразцы узколистного люпина собственной селекции ВНИИ люпина урожая 2020 и 2021 годов. Учеты и наблюдения проводили по общепринятым в селекционной работе методикам, описанным Доспеховым (1985). Почва опытных участков дер-

ново-подзолистая, среднесуглинистая. pH почвы 5,5–5,6. Метеорологические условия в исследуемый период в целом были схожими и имели неблагоприятное влияние на реализацию потенциала продуктивности основных показателей данной культуры. Наблюдались повышенные температуры и недостаток влаги, особенно в 2021 году, что сократило вегетационный период и отрицательно сказалось на формировании репродуктивных органов.

## Оборудование и инструменты

Исследования изученных показателей (содержание белка, алкалоидов, жира и лизина) в зерне сортов и сортообразцов узколистного люпина определяли с помощью оборудования на базе собственной лаборатории ВНИИ люпина по общепринятым методикам, описанным Ермаковым (1987), Артюховым и др. (2012). Помол образцов зерна люпина проводили на лабораторной мельнице ЛМТ-1.

## Методы

Опыты закладывались по методике государственного сортоиспытания. В качестве стандарта использовали сорт Витязь. Отбор проб осуществлен по ГОСТ 13586.3–2015 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб». Содержание сырого протеина определяли методом инфракрасной ИК — спектроскопии по ГОСТ 30131–96 «Жмыхи и шроты». Содержание жира — по массе обезжиренного остатка методом Ружковского (Ермаков, 1987) и методом ИК-спектроскопии по ГОСТ 30131–96 «Жмыхи и шроты». Содержание лизина — методом Мусейко А.С. и Сысоева А.Ф. Определение содержания алкалоидов — методика измерения хинолизидиновых алкалоидов в семенах люпина. Фотоколориметрический метод по Терехову Ф.К. в модификации ВНИИ люпина (свидетельство об аттестации МВИ № 032–2004 г.). Переиздана в 2012 г. Определение содержания сырого жира — по ГОСТ 29033–91.

## Процедура исследования

Для исследований зерно люпина предварительно измельчали в мельнице. Количественные и физико-химические показатели образцов зерна люпина проводили в течение двух лет. Первым этапом

проводили закладку опытов. Далее отбирали пробы для проведения биохимического анализа. Для исследований зерно люпина предварительно измельчали в мельнице. Количественные и физико-химические показатели образцов зерна люпина проводили в течение двух лет.

## Анализ данных

Для получения достоверных результатов применялся статистический метод обработки экспериментальных данных, в ходе которого определялось среднее значение искомой величины из 3 повторностей. Программный пакет MicrosoftOffice 2010 (World, Excel).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе исследования нас интересовали характеристики узколистного люпина, которые трактуют данную культуру, как пригодную для использования в пищевых целях.

Количество алкалоидов в зерне люпина является приоритетным показателем. Их повышенное содержание придает горький вкус, что отрицательно сказывается на органолептических свойствах при использовании люпина в производстве пищевых продуктов. Во ВНИИ люпина неоднократно проводились исследования по данному направлению. Было установлено, что при алкалоидности до 0,04% в зерне люпина горечь не определяется вкусовыми рецепторами человека. Но главным свойством алкалоидов является тот факт, что они весьма токсичны для человека. В разработанных и зарегистрированных технических условиях «Люпин пищевой» (2021) указано фиксированное допустимое содержание этих веществ в зерне узколистного и белого люпина и продуктах их переработки — 0,04 г/100 г.

Количество алкалоидов сорта Витязь (стандарт) незначительно превышало показатель 0,04 лишь в 2020 году (0,043%). Тогда как в 2021 году данный показатель не имел высокую величину и составил 0,035%. В среднем же алкалоидность сорта Витязь была в пределах нормы (Таблица 1). У сортообразца



СН 39–20 также алкалоидность была повышенной в 2021 году (0,045%). Однако уровень данного показателя в 2020 году имел минимальное значение и составил 0,010%. Нестабильность в содержании алкалоидов связана с индивидуальной ответной реакцией на климатические особенности данного периода. В среднем же содержание алкалоидов за время исследований у всех образцов было невысоким и варьировалось от 0,020% у Гибрида 1246 до 0,039% у стандарта Витязя.

Продолжительность вегетационного периода у представленных образцов люпина была небольшой и колебалась в среднем за два года от 82 дней у СБС 59–20 до 94 дней у Гибрида 1314. Это говорит о скороспелости исследуемых сортов образцов (Таблица 1).

Содержание протеина в зерне люпина характеризует его высокую биологическую ценность.

Нами были изучены и проанализированы такие показатели для узколистного люпина, как содержание сырого протеина, урожайность зерна и сбор белка с единицы площади (Рисунок 1).

На графике отображены средние значения за 2020–2021 гг.

Согласно данным графика, в сравнении со стандартом, который имел невысокие значения по изученным показателям (протеин — 32,1%; урожайность 17,0 ц/га; сбор белка 5,45 ц/га), у трех образцов наблюдается сочетаемость и отмечены высокие значения по всем трем исследуемым параметрам.

**Таблица 1**

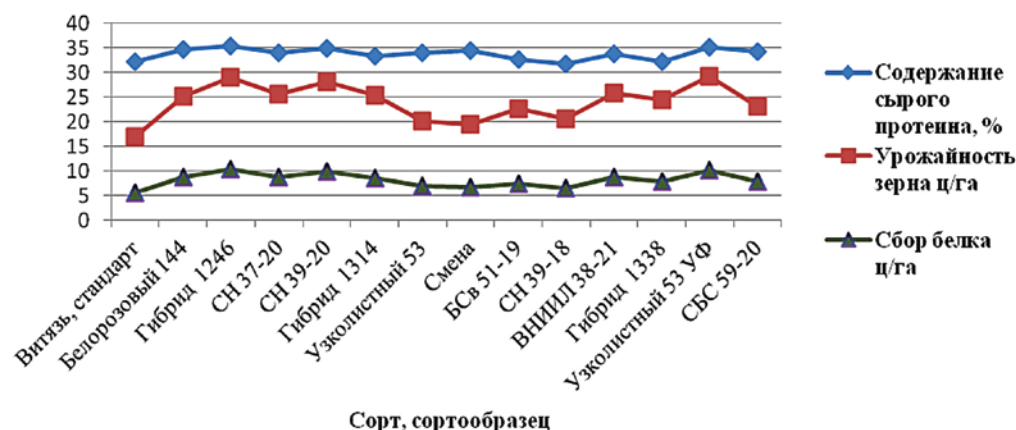
Содержание алкалоидов (%) и продолжительность вегетационного периода в 2020–2021 гг.

Сорт, сортообразец	Содержание алкалоидов в зерне, %			Вегетац. период (дн.)
	2020	2021	среднее	среднее
Витязь, стандарт	0,043	0,035	0,039	83
Белорозовый 144	0,034	0,041	0,037	91
Гибрид 1246	0,010	0,029	0,020	85
СН 37-20	0,037	0,034	0,035	88
СН 39-20	0,010	0,045	0,028	87
Гибрид 1314	0,039	0,028	0,034	94
Узколистный 53	0,033	0,027	0,030	88
Смена	0,038	0,029	0,034	86
БСв 51-19	0,045	0,032	0,038	87
СН 39-18	0,025	0,022	0,024	87
ВНИИЛ 38-21	0,023	0,024	0,024	85
Гибрид 1338	0,035	0,033	0,034	85
Узколистный 53 УФ	0,030	0,036	0,033	89
СБС 59–20	0,021	0,038	0,030	82

Это Гибрид 1246 (протеин 35,3%; урожайность зерна 29,0 ц/га, сбор белка 10,23 ц/га), Узколистный 53 УФ (протеин 35,1%; урожайность зерна 29,1 ц/га; сбор белка 10,09 ц/га) и сортообразец СН 39-20 (протеин 34,9%; урожайность 28,0 ц/га; сбор белка 9,77 ц/га). Выявлено превышение в сравнении со стандартом по протеину в 1,1 раза, по урожайности зерна в 1,6–1,7 раза, по сбору белка с единицы площади превышение составило в 1,8 раза. Отме-

**Рисунок 1**

Основные показатели сортов и сортообразцов узколистного люпина



чен довольно высокий процент протеина в исследуемых образцах 34–35 %.

Содержание жира определяет энергетический потенциал и соответственно ценность зерна. За период исследования процент жира в зернах люпина узколистного колебался в пределах от 4,66 (СН 39-18) до 5,95 (Узколистный 53 УФ) (Рисунок 2).

У большинства образцов показания превышали 5 %, что говорит о достаточно высоком содержании жира в семенах изученных сортов и сортообразцов.

Что касается лизина, то он относится к незаменимым аминокислотам, входящим в состав белка и влияющим на процессы роста, производства ан-

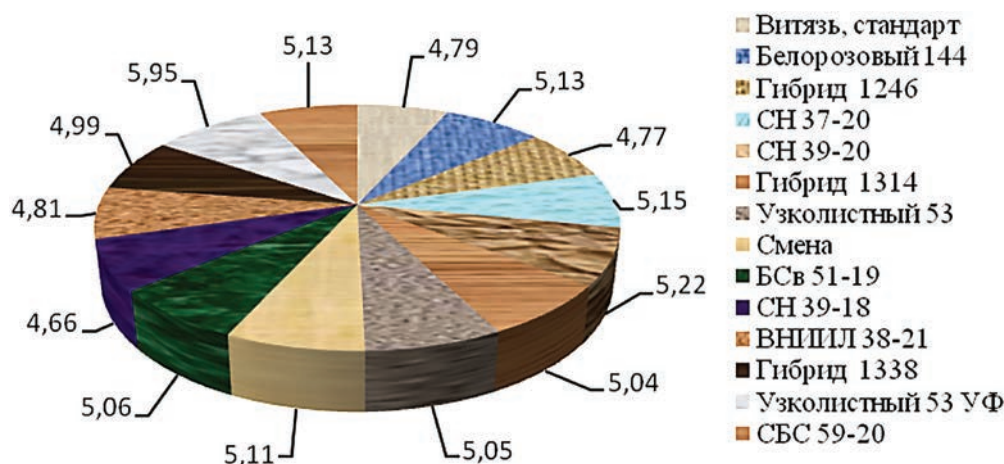
тител, ферментов и гормонов. Это подчеркивает важность и необходимость изучения его содержания в зерне люпина. В период исследований процентное содержание данной аминокислоты колебалось в пределах от 0,81 % (Гибрид 1314) до 1,23 % (Гибрид 1246) (Рисунок 3).

Средний показатель лизина в зерне изученных образцов составил 1,09 %. Уровень его содержания объясняется, прежде всего, особенностями генотипов данных сортов и сортообразцов, а также, по-видимому, влиянием погодных условий в период исследований.

В рассматриваемый нами период были проанализированы приоритетные характеристики сортов

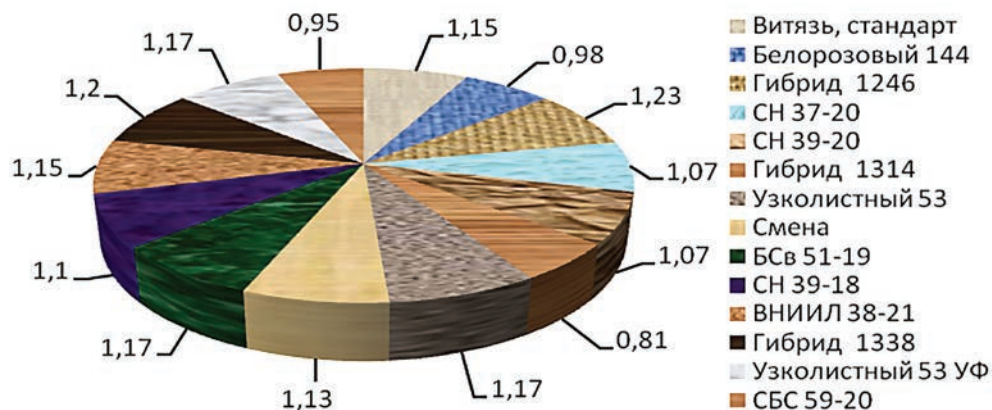
**Рисунок 2**

Содержание жира в зерне люпина (%)



**Рисунок 3**

Содержание лизина в зерне люпина (%)



и сортообразцов узколистного люпина, которые необходимы для оценки его использования в качестве сырья в пищевом производстве. Исследования данных показателей проводились ранее на сортах люпина белого (сорт Мичуринский) и люпина узколистного (сорт Белорозовый 144) (Тимошенко и др, 2022). В ходе нашего анализа были выбраны сорта и сортообразцы узколистного люпина собственной селекции.

По содержанию алкалоидов исследованные нами образцы данной культуры имели невысокие значения и находились в пределах нормы, установленной для использования люпина при производстве продуктов питания. Были отмечены сортообразцы с алкалоидностью 0,020 %. Уровень сырого протеина имел достаточно высокое значение и у отдельных образцов он достигал более 35,0 %, что превышает показатель, полученный по сорту Белорозовый 144, исследованный ранее.

Следует отметить, что в некоторых литературных данных отмечен высокий уровень содержания белка в зерне люпина (до 44 %) (Lucaset., al., 2015). Однако, в данном случае речь идет о зерне белого люпина. Тогда, как содержание белка в зернах узколистного люпина в большинстве случаев не превышает 35 % (Рущкая и др, 2021), что не противоречит нашим результатам.

Немаловажным является тот факт, что для анализируемых сортов и сортообразцов нашей селекции был отмечен короткий вегетационный период, что очень важно, поскольку это позволяет выращивать узколистный люпин в регионах России, где

периодически наблюдаются годы с неблагоприятными погодными условиями. Например, зоны Нечерноземья России.

## ВЫВОДЫ

В результате полученных биохимических характеристик сортообразцов узколистного люпина нами были выявлены наиболее перспективные его образцы. Это Гибрид 1246, СН 39–20, Узколистный 53 УФ. Данные сорта и сортообразцы могут быть использованы для дальнейшего изучения и создания отечественных районированных сортов с максимально полезными свойствами, которые необходимы в производстве продуктов питания. Создание таких сортов собственной селекции позволит обеспечить российских производителей пищевого производства недорогим белковым сырьем.

## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Любовь Викторовна Коннова:** концептуализация; методология; создание черновика рукописи; создание рукописи и ее редактирование.

**Прасковья Алексеевна Агеева:** концептуализация; верификация данных; создание черновика рукописи; создание рукописи и ее редактирование.

**Лариса Владимировна Трошина:** проведение исследования; создание рукописи и её редактирование; визуализация.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

- Агафонова, С.В., Рыков, А.И., & Мезенова, О.Я. (2019). Оценка биологической ценности белков люпина и перспектив его использования в пищевой промышленности. *Вестник Международной академии холода*, (2), 79–85. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2019-18-2-79-85>
- Agafonova, S. V., Rykov, A. I., & Mezenova, O. Ya. (2019). Evaluation of the biological value of lupin proteins and the prospects for their use in the food industry. *Bulletin of the International Academy of Refrigeration*, (2), 79–85. (In Russ.) <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2019-18-2-79-85>
- Агеева, П.А., Почутина, Н.А., & Матюхина, М.В. (2020). Люпин узколистный — источник ценных питательных веществ для использования в кормопроизводстве. *Кормопроизводство*, (10), 29–33. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.2.211-220>
- Ageeva, P.A., Pochutina, N.A., & Matyukhina, M.V. (2020). Narrow-leaved lupine — a source of valuable nutrients for use in feed production. *Feed Production*, (10), 29–33. (In Russ.) <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.2.211-220>
- Артюхов, А.И., Яговенко, Т.В., Афонина, Е.В., & Трошина, Л.В. (2012). *Количественное определение алкалоидов в люпине*. Брянск: Читай-город.
- Artyukhov, A.I., Yagovenko, T.V., Afonina, E.V., & Troshina, L.V. (2012). *Quantitative determination of alkaloids in lupine*. Bryansk: Chitay-gorod. (In Russ.)



- Вишнякова, М. А., Власова, Е. В., & Егорова, Г. П. (2021). Генетические ресурсы люпина узколистного (*Lupinus Angustifolius* L.) и их роль в доместикации и селекции культуры. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 25(6), 620–630. <https://doi.org/10.18699/VJ21.070>
- Vishnyakova, M. A., Vlasova, E. V., & Egorova, G. P. (2021). Genetic resources of narrow-leaved lupine (*Lupinus Angustifolius* L.) and their role in domestication and breeding of the culture. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 25(6), 620–630. (In Russ.) <https://doi.org/10.18699/VJ21.070>
- Вишнякова, М. А., Кушнарева, А. В., Шеленга, Т. В., & Егорова, Г. П. (2020). Алкалоиды люпина узколистного как фактор, определяющий альтернативные пути использования и селекции культуры. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 24(6), 625–635. <https://doi.org/10.18699/VJ20.656>
- Vishnyakova, M. A., Kushnareva, A. V., Shelenga, T. V., & Egorova, G. P. (2020). Alkaloids of narrow-leaved lupine as a factor determining alternative ways of use and selection of the culture. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 24(6), 625–635. (In Russ.) <https://doi.org/10.18699/VJ20.656>
- Глотова, И.А., Рязанцева, А.О., Галочкина, Н.А., Куцова, А.Е. (2019). Семена люпина — альтернатива сое в формировании потребительских свойств продовольственных товаров. *Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств»*, (2), 69–79. <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2019-12-269-79>
- Glotova, I.A., Ryazantseva, A.O., Galochkina, N.A., Kutsova, A.E. (2019). Lupine seeds — an alternative to soy in forming consumer properties of food products. *Scientific Journal of ITMO University. Series “Processes and Equipment of Food Production”*, (2), 69–79. (In Russ.) <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2019-12-269-79>
- Гапонов, Н.В. (2020). Значение люпина в продовольственной безопасности страны. Инновации и продовольственная безопасность, 4(30), 101–107.
- Gaponov, N.V. (2020). The significance of lupine in the country's food security. *Innovations and Food Security*, 4(30), 101–107. (In Russ.)
- Долгих, В. В. (2020). Применение полбяной цельнозерновой муки в комбинации с мукой из люпина, льна и топинамбура для производства функциональных белково-полбяных хлебов. *Хлебопродукты*, 8, 41–45.
- Dolgikh, V. V. (2020). The use of spelt whole grain flour in combination with flour from lupine, flax, and Jerusalem artichoke for the production of functional protein-spelt breads. *Bread Products*, 8, 41–45. (In Russ.)
- Ермаков, А.И. (1987). *Методы биохимического исследования растений*. Ленинград: Агропромиздат.
- Yermakov, A.I. (1987). *Methods of biochemical research of plants*. Leningrad: Agropromizdat. (In Russ.)
- Забодалова, Л.А., Доморошченкова, М.Л., Демьяненко, Т.Ф., & Кузнецова, Л.М. (2012). Применение комплекса гидролитических ферментов при получении концентрата белков люпина. *Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств»*, 1, 1–8.
- Zabodalova, L.A., Domoroshchenkova, M.L., Demyanenko, T.F., & Kuznetsova, L.M. (2012). The use of a complex of hydrolytic enzymes in obtaining lupine protein concentrate. *Scientific Journal of ITMO University. Series “Processes and Equipment of Food Production”*, 1, 1–8. (In Russ.)
- Красильников, В.Н., Мехтиев, В.С., Доморошченкова, М.Л., Демьяненко, Т.Ф., Гаврилюк, И.П., & Кузнецова, Л.И. (2010). Перспективы использования белков из семян люпина узколистного. *Пищевая промышленность*, 2, 40–43.
- Krasilnikov, V.N., Mekhtiev, V.S., Domoroshchenkova, M.L., Demyanenko, T.F., Gavriluk, I.P., & Kuznetsova, L.I. (2010). Prospects for the use of proteins from the seeds of narrow-leaved lupine. *Food Industry*, 2, 40–43. (In Russ.)
- Криштафович, В. И., Лахмоткина, Г. Н., & Горбатов, С. А. (2012). Использование муки продовольственного люпина при производстве мясных продуктов. *Мясная индустрия*, 12, 24–27.
- Krishtafovich, V. I., Lakhmotkina, G. N., & Gorbato, S. A. (2012). The use of edible lupine flour in meat product production. *Meat Industry*, 12, 24–27. (In Russ.)
- Купцов, Н.С., & Такунов, И.П. (2006). *Люпин — генетика, селекция, гетерогенные посевы*. Клинцы: КГТ.
- Kuptsov, N.S., & Takunov, I.P. (2006). *Lupin — genetics, selection, heterogeneous sowings*. Klintsy: KGT. (In Russ.)
- Курчаева, Е. Е., Тертычная, Т. Н., Максимов, И. В., & Манжесов, И. В. (2011). Использование люпиновой муки для производства функциональных продуктов. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (10), 63–64. <https://doi.org/10.36107/10.36107/spfp.2022.310>
- Kurchaeva, E. E., Tertychnaya, T. N., Maximov, I. V., & Manzhosov, I. V. (2011). The use of lupine flour for the production of functional products. *Storage and Processing of Agricultural Raw Materials*, (10), 63–64. (In Russ.) <https://doi.org/10.36107/10.36107/spfp.2022.310>
- Лахмоткина, Г.Н. (2011). Пищевые волокна люпина как ингредиент продуктов функционального питания. *Пищевая промышленность*, 11, 29–31.
- Lakhmotkina, G.N. (2011). Lupine dietary fibers as an ingredient in functional food products. *Food Industry*, 11, 29–31. (In Russ.)
- Мироненко, А.В. (1966). Методы определения алкалоидов. Минск: Наука и техника.
- Mironenko, A.V. (1966). *Methods of determining alkaloids*. Minsk: Science and Technology. (In Russ.)
- Никонович, Ю.Н., Тарасенко, Н.А., Болгова, Д.Ю. (2017). Использование продуктов переработки семян люпина в пищевой промышленности. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 1, 9–12.
- Nikonovich, Yu.N., Tarasenko, N.A., & Bolgova, D.Yu. (2017). The use of processed lupine seed products in the food industry. *News of Higher Educational Institutions. Food Technology*, 1, 9–12. (In Russ.)
- Нициевская, К.Н., Мотовилов, О.К., & Грушина, О.С. (2011). Использование растительных пастообразных концентратов в производстве мясных рубленых полуфабрикатов. *Вестник КРАСГАУ*, 11(62), 208–212.



- Nitsievskaya, K.N., Motovilov, O.K., & Grushina, O.S. (2011). Use of plant paste concentrates in the production of minced meat semi-finished products. *Bulletin of KRASGAU*, 11(62), 208–212. (In Russ.)
- Панкина, И. А., & Борисова, Л.М. (2015). Исследование алкалоидности семян люпина. *Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств»*, (4), 80–87.
- Pankina, I.A., & Borisova, L.M. (2015). Study of the alkaloid content of lupine seeds. *Scientific Journal of ITMO University. Series “Processes and Apparatuses of Food Production”*, (4), 80–87. (In Russ.)
- Рущая, В.И., & Гапонов, Н.В. (2021). Опыт использования люпина и продуктов его переработки в пищевой промышленности (обзор). *Зернобобовые и крупяные культуры*, 1(37), 83–89.
- Rutskaia, V.I., & Gaponov, N.V. (2021). Experience of using lupine and its processed products in the food industry (review). *Legumes and Cereal Crops*, 1(37), 83–89. (In Russ.)
- Тарасенко, Н.А., Никонович, Ю.Н., & Михайленко, М.В. (2017). Порошок из семян люпина — перспективный белковый обогатитель. *Научный журнал КубГАУ*, 129(05), 236–247. <https://doi.org/10.21515/1990-4665-129-020>
- Tarasenko, N.A., Nikonovich, Yu.N., & Mikhaylenko, M.V. (2017). Lupin seed powder — a promising protein enricher. *Scientific Journal of KubSAU*, 129(05), 236–247. (In Russ.) <https://doi.org/10.21515/1990-4665-129-020>
- Тимошенко, Е.С., Лукашевич, М.И., Яговенко, Г.Л., Агеева, П.А., & Зайцева, Н.М. (2022). Характеристика перспективных сортов люпина Мичуринский и Белорозовый 144 для пищевого использования. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (2), 219–232. <https://doi.org/10.36107/spfp.2022.310>
- Timoshenko, E.S., Lukashevich, M.I., Yagovenko, G.L., Ageeva, P.A., & Zaitseva, N.M. (2022). Characteristics of promising lupine varieties Michurinsky and Belorozovy 144 for food use. *Storage and Processing of Agricultural Raw Materials*, (2), 219–232. (In Russ.) <https://doi.org/10.36107/10.36107/spfp.2022.310>
- Frick, K. M., Kamphuis, L. G., Siddique, K. H., Karen M., Singh, K.B., & Foley, R. C. (2017). Quinolizidinealkaloidbiosynthesis in lupins and prospects for grain quality improvement. *Frontiers in Plant Science*, 8(87), 112. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00087>
- Lucas, M. M., Stoddard, F. L., Annicchiarico, P., Frías, J., Martínez-Villaluenga, C., Sussmann, D., Duranti, M., Seger, A., Zander, P. M., & Pueyo, J. J. (2015). The future of lupin as a protein crop in Europe. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1–6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00705>
- Pollard, N.J., Stoddard, F.L., Popineau, Y., Wrigley, C.W., & MacRitchie, F. (2002). Lupin flours as additives: Dough mixing, breadmaking, emulsifying and foaming. *Cereal Chemistry*, 79, 662–669. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2002.79.5.662>
- Sedláková, K., Straková, E., Suchý P., Krejcarová, J., & Herzig, I. (2016). Lupin as a perspective protein plant for animal and human nutrition — a review. *Acta Veterinaria Brno*, 85, 165–175. <https://doi.org/10.2754/avb201685020165>

УДК 631.526.32: 631.563

# Влияние метеоусловий вегетационного периода, степени зрелости и температурных режимов хранения на лежкость и качество плодов новых сортов яблони селекции ВНИИСПК

Всероссийский  
научно-исследовательский институт  
селекции плодовых культур,  
Жилина, Российская Федерация

**КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:**  
**Любовь Викторовна Коннова**  
E-mail: nikitin@orel.vniispk.ru

**ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:**  
данные текущего исследования  
доступны по запросу  
у корреспондирующего автора.

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:**  
Никитин, А.Л., & Макаркина, М.А.  
(2023). Влияние температурного фактора на лежкость и качество плодов новых сортов яблони селекции ВНИИСПК. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 145–164. <https://doi.org/10.36107/spfr.2023.4.449>

**ПОСТУПИЛА:** 05.02.2023

**ПРИНЯТА:** 15.12.2023

**ОПУБЛИКОВАНА:** 30.12.2023

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:**  
авторы сообщают об отсутствии  
конфликта интересов.



А. Л. Никитин, М. А. Макаркина

## АННОТАЦИЯ

**Введение:** Для сохранения высокого качества плодов яблони при хранении важно, чтобы они были собраны в оптимальной съемной степени зрелости, а температурные условия холодильника оптимизированы, дифференцированы и конкретизированы для новых, не изучавшихся ранее сортов.

**Цель:** Определение влияния учетных периодов вегетации и различных температурных режимов хранения на лежкость и качество плодов различных сортов яблони с учетом их зрелости при съеме в саду и продолжительности хранения.

**Материалы и методы:** Анализировали метеоусловия трех учетных периодов вегетации перед съемом плодов в саду в 2021 и 2022 годах (1-й период – цветение – дата съема плодов; 2-й – за месяц до съема; 3-й – за две недели до съема). Изучали лежкость плодов 5-ти новых сортов яблони в зависимости от температурных режимов хранения (+2 °C и – 1 °C).

**Результаты:** Плоды ранней степени зрелости (2022 год) имели лучшую лежкость и меньше страдали от физиологических расстройств (ФР), нежели плоды, более зрелые при съеме (2021 год). Это, наряду с меньшим периодом хранения, сказалось на лучшей лежкости плодов в 2022 году.

Здоровых плодов по всем сортам было больше в 2022 году – 82,39 % (в 2021 году – 69,71 %).

Для сортов Ивановское, Патриот и Рождественское лучшим режимом хранения плодов был – 1 °C, для сортов Вавиловское и Министр Киселев – +2 °C. Режим хранения – 1 °C в среднем по сортам был существенно лучшим. Выявлено поражение плодов ФР – 16,7 % (общее среднее) и микробиологическими заболеваниями (МЗ) – 7,2 %. Режим хранения оказывал существенное влияние на ФР плодов. Напротив, поврежденных МЗ плодов в режиме +2 °C было меньше, чем в режиме – 1 °C. На основании анализа устойчивости изучаемых сортов к ФР и МЗ плодов разработан относительный коэффициент устойчивости (ОКУ). По степени устойчивости к большинству поражений и повреждений сорта Вавиловское, Ивановское и Рождественское отнесены к группе относительно устойчивых – ОКУ < или = 1.

**Выводы:** Степень зрелости и продолжительность хранения плодов оказывают влияние на выход здоровых плодов по сортам. Причины падения или повышения устойчивости плодов к поражениям и повреждениям во время хранения могут обуславливаться различными условиями, имеющими место как до, так и в процессе их длительного хранения. Все технологические приемы, применяемые, как при уборке плодов в саду, так и в процессе их хранения, должны сводиться к созданию наиболее благоприятных для них условий, обеспечивающих сохранение присущей им устойчивости. Группа исследованных сортов имеет очень короткий период коммерческой реализации. Необходима корректировка температурных условий и продолжительности хранения плодов изучаемых сортов.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

яблоки; метеоусловия; степень зрелости; температура хранения; продолжительность хранения; функциональные расстройства; микробиологические заболевания; относительный коэффициент устойчивости

# Influence of the Weather Conditions of the Growing Season, Degree of Maturity and Temperature Regimes Storage on the Keeping Quality and Fruit Quality of New Apple Cultivars Bred by VNIISPK

Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPK), Zilina, Russian Federation

Andrey L. Nikitin, Margarita A. Makarkina

## CORRESPONDENCE:

Andrey L. Nikitin

E-mail: [nikitin@orel.vniispk.ru](mailto:nikitin@orel.vniispk.ru)

## DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

## FOR CITATIONS:

Nikitin, A.L., Makarkina, M.A. (2023). Influence of the Weather conditions of the growing season, degree of maturity and temperature regimes storage on the keeping quality and fruit quality of new apple cultivars bred by VNIISPK. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 145–164. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.449>

RECEIVED: 05.02.2023

ACCEPTED: 15.12.2023

PUBLISHED: 30.12.2023

## DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.



## ABSTRACT

**Introduction:** To maintain the high quality of apple fruits during storage, it is important that they are collected at an optimal ripeness level, and that the temperature conditions of the refrigerator are optimized, differentiated and specified for new, previously unstudied varieties.

**Purpose:** Determination of the influence of different temperature storage regimes on the keeping quality and quality of fruits of various apple varieties, taking into account their maturity when harvested in the garden and the duration of storage.

**Materials and Methods:** We analyzed the weather conditions of three accounting periods of the growing season before harvesting fruits in the garden in 2021 and 2022 (1st period – flowering – date of harvesting; 2nd – a month before harvesting; 3rd – two weeks before harvesting). The keeping quality of fruits of 5 new varieties of apple trees was studied depending on the temperature conditions of storage (+ 2 °C and – 1 °C).

**Results:** Fruits of early maturity (2022) had better keeping quality and suffered less from functional disorders (FDs) than fruits that were more mature at harvest (2021). This, along with a shorter storage period, affected the better keeping quality of fruits in 2022. There were more healthy fruits for all varieties in 2022 – 82.39 % (in 2021 – 69.71 %). For varieties Ivanovskoye, Patriot and Rozhdestvenskoye, the best fruit storage regime was – 1 °C, for varieties Vavilovskoye and Minister Kiselev – + 2 °C. The storage mode of – 1 °C was significantly better on average for the varieties. Fetuses were affected by FDs – 16.7 % (general average) and microbiological diseases (MD) – 7.2 %. The mode of storage had a significant impact on the FDs of fruits. On the contrary, there were less damaged fetuses in the mode + 2 °C than in the mode – 1 °C. Based on the analysis of the resistance of the studied varieties to the FDs and MD of fruits, a relative resistance coefficient (RCR) was developed. According to the degree of resistance to most lesions and damages, the varieties Vavilovskoe, Ivanovskoye and Rozhdestvenskoye are classified as relatively resistant – RCR < or = 1.

**Conclusion:** The degree of maturity and duration of storage of fruits affect the yield of healthy fruits by variety. The reasons for the fall or increase in the resistance of fruits to damage and damage during storage may be due to various conditions that occur both before and during their long-term storage. All technological methods used, both when harvesting fruits in the garden and during their storage, should be reduced to creating the most favorable conditions for them, ensuring the preservation of their inherent stability. The group of studied varieties has a very short period of commercial implementation. It is necessary to adjust the temperature conditions and the duration of storage of the fruits of the studied varieties.

## KEYWORDS

apple fruit; weather conditions; degree of maturity; storage temperature; storage time; functional disorders; microbiological diseases; relative stability coefficient

## ВВЕДЕНИЕ

Яблоня (*Malus × domestica* Borkh.) одна из наиболее широко культивируемых в мире плодовых культур, и сохранность ее плодов жизненно важна для потребителей и прибыльности яблочной индустрии. Плоды яблони в основном выращивают для реализации в свежем виде, хотя они также используются для приготовления сока, сидра, вина, бренди, желе, джема, яблочного пюре и масла, а также уксуса<sup>1</sup>. Яблочные плоды очень полезны для здоровья человека. Они являются источниками витаминов, микроэлементов и полифенолов. Употребление яблок в свежем виде оказывает фармакологическое действие на течение сердечно-сосудистых и хронических заболеваний. Чтобы потребители регулярно могли употреблять свежие и качественные внешне и внутренне (с повышенным содержанием питательных веществ) яблоки в пищу, важно обеспечить их круглогодичный запас. После сбора урожая физико-химические и питательные свойства плодов яблони сохраняют за счет применения различных технологий хранения, которые значительно продлевают срок потребления яблок, тем самым улучшая общее состояние здоровья потребителей (Ouyenihi et al., 2022).

По данным WAPA (Всемирная ассоциация яблок и груш) мировое производство яблок в 2021 году составило примерно 81 млн. тонн. На долю Российской Федерации приходилось 1,4 млн. тонн<sup>2</sup>. Плоды яблони — биологические объекты, продолжающие жить и метаболически функционировать после их съема с материнского растения, они дышат, расщепляя углеводы и выделяя CO<sub>2</sub> и тепло и транспирируют влагу, что оказывает влияние на их хранение. Традиционной и наиболее распространенной технологией хранения плодов яблони, применяемой для сохранения качества продукции, является их холодильное хранение в механически охлажденном воздухе (Kader, 1986; Brizzolara et al., 2020). Охлажденный воздух замедляет ферментативную активность — химические реакции в плодах, которые способствуют созреванию и старению фруктов, а также замедляет скорость роста повреждающих их микроорганизмов.

Хранение фруктов во фруктохранилищах-холодильниках в последнее время заметно продвинулось вперед, благодаря применению новейших инновационных технологий, обеспечив лучшую сохранность органолептических и физических качеств плодов, снижение их порчи и увеличив сроки лежкости. Помимо охлаждения, в настоящее время наиболее часто используются технологии обработки плодов 1-метилциклопропеном (1-МСП) и их хранение в контролируемой атмосфере (CA) (Zanella & Rossi, 2015; Anese et al., 2019; Fernandes et al., 2021; Gudkovsky et al., 2021). Но эффективность холодного хранения плодов семечковых культур зимних сортов, убранных из сада в оптимальной для хранения степени зрелости и сегодня в основном продолжает зависеть от температурного режима хранилища, являющегося наиболее важным фактором, влияющим на лежкость, а также от относительной влажности и движения воздуха в холодильной камере (McCormick et al., 2012; Crouch et al., 2015). В настоящее время предпринимаются попытки прогнозирования срока сохранности плодов яблони на основе показателей их качества и температуры хранения (Cao et al., 2021).

Температура наиболее существенный фактор, влияющий на интенсивность дыхания плодов — метаболический процесс, обеспечивающий энергией биохимические изменения постоянно происходящие в них. Дыхание связано с ферментативными процессами, и в значительной степени контролируется температурой окружающей среды. Плоды разных сортов могут иметь разную частоту дыхания при их хранении. Чем выше температура, тем интенсивнее дыхание. Повышенная интенсивность дыхания плодов приводит к ускорению и увеличению их порчи, стимулирует выработку плодами этилена (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>), который способствует преждевременному созреванию и климактерию и форсирует старение тканей. Низкие температуры обеспечивают продление срока хранения продукции за счет уменьшения дыхания и блокировки в связи с этим внутреннего физиологического разложения плодов, снижают потери воды и увядание, сокращают выделение плодами C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> и замедляют рост болезнетворных микроорганизмов (Avilova et al., 2019).

<sup>1</sup> Apple fruit and tree. <https://www.britannica.com/plant/apple-fruit-and-tree>

<sup>2</sup> WAPA releases an update of the Northern Hemisphere apple and pear crop. [http://www.wapa-association.org/asp/article\\_2.asp?doc\\_id=643](http://www.wapa-association.org/asp/article_2.asp?doc_id=643)



Значимым фактором, влияющим на дыхание плодов, является стадия их зрелости при закладке в холодильник на хранение. Зрелость плодов зависит от температурно-влажностных условий периода вегетации. Плоды, не достигшие оптимальной степени съемной зрелости, как и перешедшие за ее пределы могут быть подвержены различным физиологическим поражениям и микробиологическим повреждениям при хранении. Перезревающие плоды имеют минимальный потенциал дозревания и временной период хранения в холодильнике, и более восприимчивы к повреждению послеуборочными патогенами. Плодами съемной степени зрелости считаются те, которые еще не достигли полного созревания и не пригодные в пищу (Никитин, 1999; Никитин & Макаркина, 2020). Изучение влияния метеоусловий вегетационных сезонов на продолжительность лежкости плодов яблони начал еще в 1911 году доктор Дж. К. Шоу с факультета садоводства Массачусетского сельскохозяйственного колледжа (Shaw, 1911), но до настоящего времени еще не разработан универсальный комплекс показателей, определяющих объективную съемную степень зрелости плодов при их съеме в саду. Наступление съёмной зрелости плодов определяют по комплексу показателей, в частности по прочности кожицы и плотности мякоти плодов, содержанию остаточного крахмала на основе йод-крахмальной пробы в течение некоторого времени до предполагаемой даты уборки урожая, а также по содержанию сухих веществ и титруемой кислотности в зависимости от сортовых особенностей плодов. Время между съемной и потребительской зрелостью зависит от сорта и условий хранения плодов, в частности температурных.

Температура хранения также является наиболее значимым условием, тормозящим и предотвращающим созревание фруктов в холодильнике (Khorshidi, 2010; Никитин, 1999; Никитин & Макаркина, 2021). Темпы созревания плодов при хранении и выработки ими  $C_2H_4$  увеличиваются с повышением температурного режима в камере хранения. Для отсрочки созревания и перезревания, плоды следует хранить как можно ближе к  $0^{\circ}C$ . Изменения, происходящие в плодах в процессе хранения, в основном имеющие физиологическое происхождение, вызывают их перезревание, чрезмерное окрашивание, появление посторонних привкусов с интенсивным спиртовым ароматом, размягчение мякоти. Пораженные физиологическими расстрой-

ствами плоды, становятся более восприимчивыми к патогенным микроорганизмам, усугубляя потери вдобавок к потерям от микробиологических заболеваний, заражение которыми плоды получили еще в саду. Нарушения в плодах яблони являются основной причиной снижения их качества (при легкой степени) или потерь (при тяжелой степени) (Gapper et al., 2023; Gapper et al., 2017).

Хранение при минимально допустимой для плодов температуре является существенным фактором продления срока их хранения (Lee & Kader, 2020; Prange & Wright, 2023). Температура хранения при этом не должна опускаться ниже точки заморозки плодов, а для ряда сортов ниже оптимального комфортного диапазона, выход за который может привести к их низкотемпературным поражениям от переохлаждения, тем самым значительно снизить структурные и качественные характеристики плодов (Van Pham et al., 2008). Повышенные температуры могут способствовать быстрой потере плодами влаги (в зависимости от их зрелости), а вследствие этого — массы и сокращению сроков хранения.

В прошлом основное внимание в предотвращении потерь плодов при их хранении уделяли микробиологическим заболеваниям, сейчас же главную опасность представляют физиологические расстройства плодов, особенно загар и горькая ямчатость. Причиной развития этих физиологических расстройств на плодах склонных к ним сортов является ряд факторов, в том числе погодные условия периода активной вегетации плодов (Никитин & Макаркина, 2019; Никитин & Макаркина, 2021; Nikitin & Makarkina, 2021). Даже незначительное расхождение в сумме активных температур и количестве осадков по сезонам выращивания может повлиять на развитие функциональных поражений плодов, их физико-химические показатели и продолжительность хранения. В частности, взаимодействие между температурой хранения и степенью зрелости плодов яблони (сроки их съема в саду), влияет на изменение их твердости в процессе хранения (Watkins & Thompson, 1992; Mohebi et al., 2017). Сроки съема существенно влияют на количество потерь плодов при хранении. Ранний их сбор может привести к поражению загаром и увяданию, а поздний — к внутреннему побурению. Определение оптимального срока уборки плодов из сада имеет решающее значение для их последующего хранения и качества. Для каждого сорта сроки созрева-

ния плодов на дереве варьируются в зависимости от погодных условий вегетационных периодов сезона выращивания, поэтому оптимальная степень зрелости и съем плодов не могут соответствовать конкретной календарной дате. На физико-химические изменения в плодах яблони оказывает влияние и продолжительность их хранения (Jan & Rab, 2012). Правильно разработанный режим хранения плодов с дифференциацией по сортам может значительно снизить или предотвратить многие физиологические расстройства плодов.

При схожих режимах хранения частота и тяжесть физиологических расстройств у плодов яблони могут варьироваться в разные годы, что можно объяснить действием сезонных факторов перед сбором урожая в саду (McCormick et al., 2021). Для успешного хранения плодов семечковых культур необходима определенная, постоянная, строго дифференцированная по помологическим сортам температура и относительная влажность воздуха, а также оптимальная для успешного хранения степень зрелости плодов при их съеме в саду.

Целью данного этапа исследований являлось определение влияния учетных периодов вегетации и различных температурных режимов хранения на лежкость и качество плодов новых сортов яблони с учетом их зрелости при съеме в саду и продолжительности хранения в холодильнике. Задачей комплексных исследований является нахождение оптимальных сроков уборки урожая, наилучшего температурного режима и оптимальной продолжительности хранения плодов новых сортов яблони с минимальными потерями их качества.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Время, место и объекты исследований

Исследования проводили в сезоны 2021–2022 и 2022–2023 годов на участках первичного сортоизучения (сбор плодов для хранения) и в лаборатории биохимической и технологической оценки сортов и хранения ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур» (ВНИИСПК).

Объектами исследований являлись новые сорта яблони селекции ВНИИСПК зимнего срока со-

зревания, внесенные в Госреестр селекционных достижений, допущенных к использованию: Вавиловское (триплоидный, иммунный к парше), Ивановское (иммунный к парше), Министр Киселёв (триплоидный, устойчивый к парше), Патриот (триплоидный) и Рождественское (триплоидный, иммунный к парше).

### Оборудование

Плоды хранили в отечественных портативных вариативных холодильных камерах «Polair-CV114-S» (ШХн-1,4) (тип применяемого хладагента R134a, внутренний объем — 1,4 м<sup>3</sup>), оборудованных программируемыми контроллерами PYZ1R05J4 (J5) в пластиковых ящиках, объемом 40 литров (12–15 кг плодов), изготовленных из пищевого полиэтилена. Температурные режимы хранения — +2 °C и –1 °C, относительная влажность воздуха — 85...90 %. Состав атмосферы — обычный. Контроль температурно-влажностных условий в холодильных камерах осуществляли при помощи комплекса электронных регистраторов TRKO-2V, соответствующих СЦТР 467569.002 ТУ.

### Методы

Состояние съемной зрелости определяли по сумме активных температур вегетационного периода  $\geq 10^{\circ}\text{C}$ , осадкам и гидротермическому коэффициенту Селянинова (ГТК) — индикатору условного баланса влаги (показатель территориальной засухи) и содержанию и локализации в плодах крахмала йод-крахмальная проба (ЙКП). Учитывали 3 периода по метеоусловиям: 1 — с мая до съема плодов (цветение — дата съема плодов), 2 — за месяц до уборки урожая и 3 период — за две недели до съема. Полным цветением считался тот временной промежуток, когда 75–80 % соцветий на северной стороне дерева распускались.

ГТК определяли отношением суммы осадков за период между массовым цветением и съемной зрелостью к сумме температур  $\geq 10^{\circ}\text{C}$  за тот же период, умноженным на 10. ГТК — 1,0–1,4 — соответствует оптимальному увлажнению — обеспечивает лучшую лежкость плодов; > 1,4 — избыточному — отрицательно сказывается на лежкости плодов; < 1,0 — засухе — отрицательно сказывается на леж-

кости плодов. Среднесуточное количество осадков по месяцам находили исходя из отношения суммы осадков за месяц к количеству суток с осадками в этом месяце.

ЙКП определяли гистохимически по 6-ти бальной шкале от 0 до 5. 0 — плод перезрел; 1 — небольшое потемнение поверхности только в районе кожицы (наступление потребительской зрелости или полного созревания); 2 — окрашивание проявляется только под кожицей, и только отдельные участки поверхности среза плода слегка окрашены (плоды пригодны только для кратковременного хранения и транспортировки); 3 — появление светлых участков по всей площади (плоды рекомендуется закладывать на хранение); 4 — небольшая часть плода светлеет в районе плодоножки и семенного гнезда (начало созревания плодов); 5 — вся поверхность среза плода черно-синяя (плод не созрел)<sup>3</sup>.

Исследования проводили по общепринятым методикам, рекомендациям и определителям болезней плодов (Дементьева & Выгонский, 1988; Седова & Гудковский, 1999).

## Процедура исследования

Нормально развитые плоды снимали с типичных для помологического сорта деревьев, вступивших в период товарного плодоношения, с характерным для данных лет урожаем, не менее чем с трех деревьев. На опытное хранение плоды закладывали в день их съема в саду в состоянии их съемной зрелости. В каждом варианте опыта плоды каждого сорта хранили в 4-х повторностях (повторность — 1 ящик).

Блок представленных сортов, в аспекте изучения лежкости их плодов в 2021 году начали исследовать впервые. Так как низкотемпературные и другие функциональные расстройства проявляются на плодах значительно быстрее, нежели загар и горькая ямчатость, мы сознательно пролонгировали продолжительность хранения в 2021 году, чтобы наиболее полно зафиксировать на плодах загар и горькую ямчатость на недостаточно устойчивых

к ним сортах. В 2022 году продолжительность хранения плодов была скорректирована.

По окончании хранения визуально определяли и фиксировали здоровые и получившие функциональные расстройства и микробиологические повреждения плоды, в зависимости от температурных режимов. Потери (отход) группировали по видам и степени поражения и повреждения. Учет плодов с дефектами проводили по количеству с пересчетом на проценты. При наличии на одном плоде нескольких расстройств или заболеваний учитывали преобладающее. Плоды, поврежденные микробиологическими заболеваниями на площади до 10% относили к частично поврежденным, на площади  $\geq 10\%$  к абсолютно поврежденным.

Также отбирали по 5 здоровых плодов из каждого опытного варианта и выдерживали их при комнатной температуре (18–20 °C) 5–10 суток для определения периода, при котором плоды сохраняют товарные качества после хранения — «остаточный эффект хранения».

## Анализ данных

Статистическую обработку данных двухфакторных — (помологические сорта — фактор А, годы — фактор В), (помологические сорта — фактор А, температурные режимы — фактор В) и трехфакторного (годы — фактор А, помологические сорта — фактор В, температурные режимы — фактор С) опытов, проводили методом дисперсионного анализа с помощью программы Microsoft Excel. Графическую визуализацию полученных данных осуществляли при помощи программ — Minitab 14.12.0; SigmaStat 3.10 и Microsoft Office Excel 2003 (11.8169.8172) SP3.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Основным фактором, оказывающим влияние на лежкоспособность плодов яблони, является помологический сорт и его биологические особенности. На формирование товарного качества и лежко-

<sup>3</sup> Никитин, А. Л., & Макаркина, М. А. (2018). *Рекомендации по длительному хранению плодов иммунных и высокоустойчивых к парше сортов яблони селекции ВНИИСПК в фруктохранилищах-холодильниках (для Средней полосы России)*. Орел: ВНИИСПК.

сти плодов яблони, кроме сортовых особенностей, значительное влияние оказывают природно-климатические условия зоны выращивания, метеорологические условия года и периодов вегетации, способы и режимы хранения<sup>4</sup>. Качество и лежкость плодов формируются в саду, а в период хранения лишь поддерживаются. Такие доуборочные факторы, как температура и осадки определяют неотъемлемую совокупную часть качественного потенциала плодов (Bui et. al., 2021) и оказывают влияние на их лежкость при низких температурах хранения, на снижение частоты дыхания плодов и замедление их созревания. Для сохранения высокого качества плодов яблони при хранении важно, чтобы они были собраны в оптимальной съемной степени зрелости для каждого нового сорта, а температурные условия холодильника оптимизированы и дифференцированы для конкретных сортов. Выбор оптимальной даты уборки и степени зрелости урожая имеет решающее значение для обеспечения наилучшего качества яблок, поступающих к потребителям после хранения. Необходимым условием при реализации плодов, является соответствие критериев качества, установленных стандартами, а также розничными и оптовыми рынками. Для каждого сорта время созревания плодов на дереве индивидуально и варьируется от участка к участку сада и от календарного сезона к сезону. Следовательно, решения о сборе урожая не могут приниматься на основе произвольной календарной даты. Важно, чтобы все характеристики качества плодов для каждого сада учитывались для достижения максимальной рентабельности. Последствия несвоевременного сбора урожая могут стать катастрофическими, а неоптимальная температура хранения плодов привести к значительным потерям. При длительном хранении необходимо установить оптимальный потенциал лежкости плодов различных помологических сортов, имеющих индивидуальное биологически обусловленное время созревания, их восприимчивость к температурным режимам холодильника и определить устойчивость к физиологическим расстройствам и микробиологическим заболеваниям плодов (Никитин, 1999; Никитин & Макаркина, 2019; Никитин & Макаркина, 2021). Метеоусловия различных периодов вегетации оказывают влияние на степень созревания плодов на дереве, их качественные показатели и продол-

жительность лежкости при хранении. Плоды должны храниться в течение соответствующего периода времени при оптимальных условиях хранения.

Исходя из вышесказанного, нами была поставлена задача — изучить новые сорта яблони, созданные во ВНИИСПК, на пригодность их плодов к длительному хранению и выделить наиболее значимые факторы, влияющие на продолжительность и качественные характеристики плодов каждого конкретного сорта.

Полученные нами данные показали, что изменение качества плодов яблони новых сортов во время хранения включает в себя целый комплекс физических и физиологических изменений. Различные генотипы свежих фруктов по-разному реагируют на условия, как до, так и после сбора урожая (Dris & Niskanen, 1999; Jobling & McGlasson, 1995), что делает необходимым дальнейшее продолжение изучения конкретных сортов еще на протяжении нескольких сезонов. Эмпирические данные наших исследований индивидуальны для конкретных сортов и сезонов вегетации, но общая тенденция того, что плоды оптимальной съемной степени зрелости имеют лучшую лежкость и меньше подвергаются физиологическим поражениям, чем более зрелые плоды, на момент их съема в различные сезоны выращивания прослеживается. Пониженные температуры хранения сдерживают внутренние физиологические процессы в плодах, а влияние различных температурных режимов на лежкость очевидно.

Метеорологические условия 1-го периода вегетации с мая до съема плодов в саду (цветение — дата съема плодов) по календарным сезонам исследований были разнообразны. ГТК в 2021 году равнялся 1,0 (начальный уровень оптимального увлажнения), а в 2022—0,9 соответственно (уровень ниже оптимального). ГТК 2-го периода (за месяц до съема) в 2021 и 2022 годах был равен 0,4, а 3-го периода (за две недели до съема плодов) — 0,7 и 0,6 соответственно, что соответствовало засухе (Таблица 1).

Суммы среднесуточных температур воздуха  $\geq 10^{\circ}\text{C}$  1-го периода превышали среднеголетние показатели, что соответствовало тенденции нескольких последних десятилетий. В 2021 году в среднем по со-

<sup>4</sup> Никитин, А. Л., & Макаркина, М. А. (2018). *Рекомендации по длительному хранению плодов иммунных и высокоустойчивых к парше сортов яблони селекции ВНИИСПК в фруктохранилищах-холодильниках (для Средней полосы России)*. Орел: ВНИИСПК.



Таблица 1

Характеристика метеорологических условий (за май — начало сентября; за месяц и за две недели до сбора плодов) за 2021 и 2022 годы

Годы исследований	Сорт	Дата съема плодов в саду	Сумма среднесуточных температур $\geq 10^{\circ}\text{C}$ , $^{\circ}\text{C}$			Сумма среднесуточных температур $\geq 10^{\circ}\text{C}$ , $^{\circ}\text{C}$			Сумма среднесуточных температур $\geq 10^{\circ}\text{C}$ , $^{\circ}\text{C}$		
			Осадки, мм	ГТК за период	Осадки, мм	ГТК за период	Осадки, мм	ГТК за период			
			1 период активной вегетации – с мая до съема			2 период – за месяц до съема			3 период – за две недели до съема		
2021	Вавиловское	27 августа	2199,9	220,2	1,00	605,5	21,9	0,36	270,6	17,5	0,65
	Ивановское	01 сентября	2302,4	231,5	1,01	599,8	30,8	0,51	244,2	19,1	0,78
	Министр Киселев	03 сентября	2317,8	236,4	1,02	574,3	35,7	0,62	238,0	24,0	1,01
	Патриот	28 августа	2216,5	220,2	0,99	602,0	19,5	0,32	270,4	17,5	0,65
	Рождественское	27 августа	2199,9	220,2	1,00	605,5	21,9	0,36	270,6	17,5	0,65
2022	Вавиловское	06 сентября	2072,1	182,2	0,88	505,0	20,9	0,41	182,3	8,7	0,48
	Ивановское	09 сентября	2082,3	184,2	0,88	454,2	13,9	0,31	126,4	10,7	0,85
	Министр Киселев	08 сентября	2082,3	184,2	0,88	472,0	18,4	0,39	147,7	10,7	0,72
	Патриот	08 сентября	2082,3	184,2	0,88	472,0	18,4	0,39	147,7	10,7	0,72
	Рождественское	06 сентября	2072,1	182,2	0,88	505,0	20,9	0,41	182,3	8,7	0,48
Средние показатели по сортам											
2021		30 августа	2247,3	225,7	1,0	597,4	26,0	0,4	258,8	19,1	0,7
2022		07 сентября	2078,2	183,4	0,9	481,6	18,5	0,4	157,3	9,9	0,6

ртам сумма среднесуточных температур она была  $2247,3^{\circ}\text{C}$ , а в 2022 году —  $2078,2^{\circ}\text{C}$  соответственно. Наибольшее количество осадков (в среднем по сортам) за 1-й период отмечено в 2021 году — 225,7 мм, наименьшее — 183,4 мм в 2022 году. Суммы осадков 1-го учетного периода были ниже среднеемноголетних по климатической зоне. Метеоусловия всех учетных периодов выращивания имели количественные расхождения. Самым теплыми месяцами за годы изучения был июль в 2021 году со среднесуточной температурой  $21,7^{\circ}\text{C}$  и август в 2022 году —  $20,4^{\circ}\text{C}$ . Самым влажным был июнь, как в 2021, так и в 2022 году. Среднесуточное количество выпавших осадков за этот месяц — 11,1 и 8,5 мм соответственно (Рисунок 1).

Более высокая температура воздуха летом 2021 года способствовала раннему созреванию плодов яблоки на дереве, что обусловило их съем на неделю

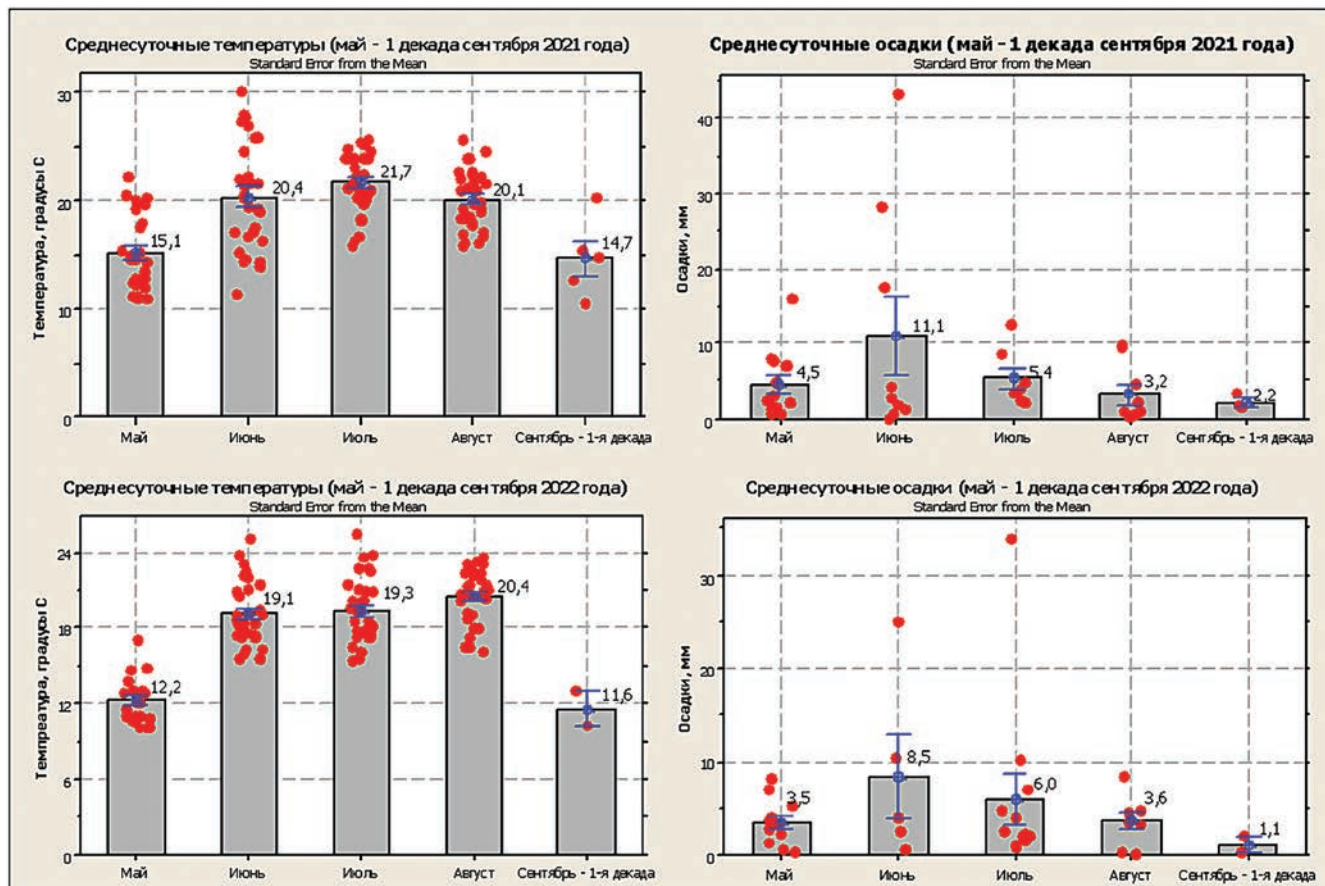
раньше, чем в 2022 году. Соответственно температура воздуха летом 2022 года была ниже, и съемная зрелость плодов наступала позднее, то есть, несмотря на то, что плоды в 2022 году убрали на неделю позже, чем в 2021, степень их зрелости была ниже, чем у плодов урожая 2021 года.

Все учетные периоды 2021 года были более теплыми и влажными, нежели периоды 2022 года. За 2-й и 3-й учетные периоды отмечали температурно-влажностные колебания, ГТК, как уже отмечалось выше, соответствовал засухе — неблагоприятным условиям для длительной лежкости плодов (Рисунок 2).

Известно, что плоды оптимальной съемной степени зрелости сохраняются в холодильнике лучше и не так страдают от физиологических поражений, нежели плоды, более созревшие на момент их съема. Пониженные температуры хранения сдержи-

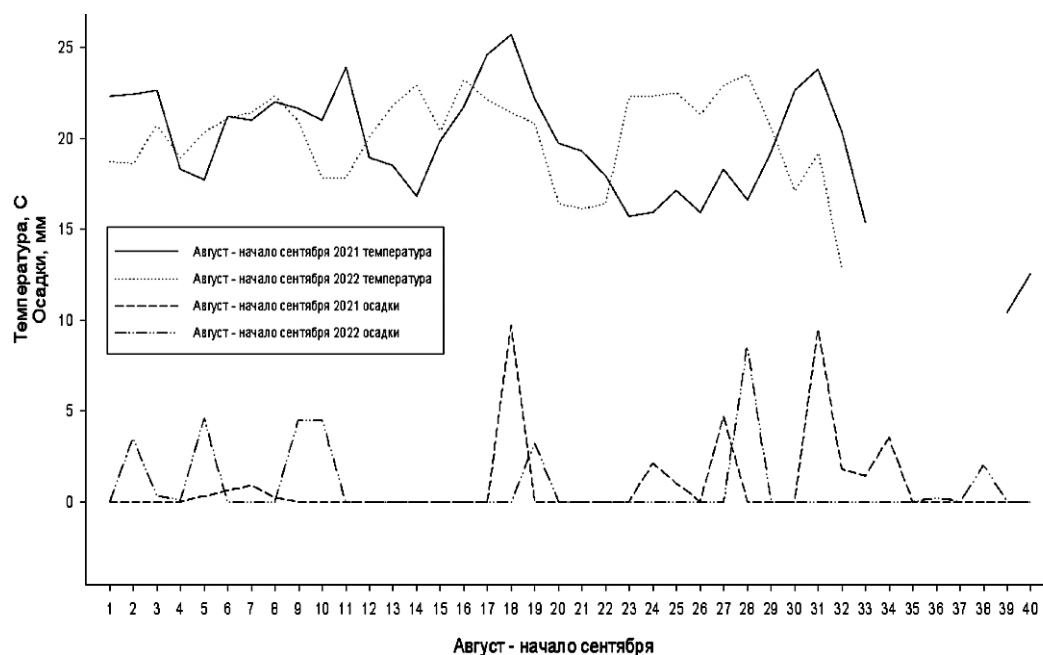
**Рисунок 1**

Среднесуточные температуры воздуха  $\geq 10$  (градус С) и осадки (мм) за май – 1-ю декаду сентября 2021 и 2022 года (визуализация Minitab 14.12.0)



**Рисунок 2**

Колебания среднесуточных температур воздуха  $\geq 10$  (градус С) и осадков (мм) за август – начало сентября 2021 и 2022 года (месяц до сбора плодов) (визуализация SigmaStat 3.10)



вают физиологические процессы, происходящие в плодах, но влияние определенного температурного режима на общий баланс реакций в них для различных сортов относительно непредсказуем и может быть познан лишь эмпирически (Никитин, 1999). В 2021 году плоды всех сортов были сняты в саду при общем среднем индексе йод-крахмальной пробы — 3,42 балла (начало активного созревания плодов — поздняя съемная степень зрелости), а в 2022 году при — 3,07 балла (оптимальная съемная степень зрелости, при которой плоды рекомендуется закладывать на хранение) ( $HCP_{01}=0,14$ ) (Таблица 2). Плоды сортов Вавиловское, Ивановское, Патриот и Рождественское в 2022 году были заложены на хранение в оптимальной съемной степени зрелости — 3,00; 2,95; 3,12 и 3,02 балла, что, наряду с меньшим сроком продолжительности хранения, в определенной мере сказалось на лучшей их лежкости, чем в 2021 году (Таблица 2. Рисунок 3).

Продолжительность хранения в среднем за 2021 и 2022 годы (расчетные данные) варьировала от 160 (сорт Патриот) до 191 суток (сорт Вавиловское) (Рисунок 4, Таблица 4). Наибольший выход здоровых плодов зафиксирован у сорта Рождественское — 87,6 % в режиме  $-1^{\circ}\text{C}$ , наименьший у сорта Патриот — 52,5 % в режиме  $+2^{\circ}\text{C}$  (Рисунок 4, Таблица 4).

**Таблица 2**

Йод-крахмальная проба плодов при съеме в саду, баллы (2021, 2022 годы). Оценка эффектов А, В, взаимодействия АВ

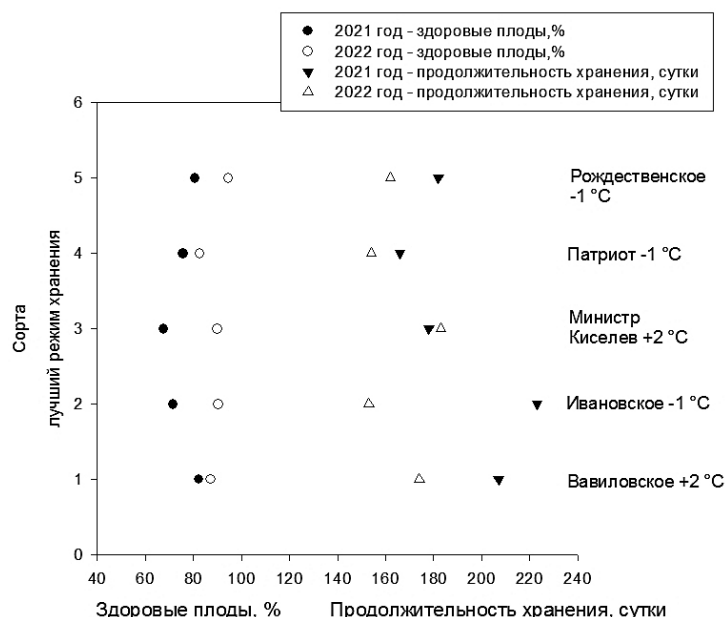
Фактор А – сорта	Фактор В – годы		Средние по фактору А $HCP_{01}=0,21$
	2021	2022	
Вавиловское	3,72	3,00	3,36
Ивановское	2,45	2,95	2,70
Министр Киселёв	2,55	3,28	2,92
Патриот	4,58	3,12	3,85
Рождественское	3,78	3,02	3,40
<b>Средние по фактору В</b> $HCP_{01} = 0,14$ $HCP_{AB_{01}}=0,30$	3,42	3,07	

Более высокий выход здоровых плодов был в 2022 году — 82,39% (в 2021 году — 69,71%) ( $HCP_{05} = 3,78$ ) (Таблица 3). Метеорологические условия сезона 2022 года (и продолжительность хранения плодов) независимо от сортов оказывали положительное влияние на выход здоровых плодов по сравнению с 2021 годом.

Режим хранения  $-1^{\circ}\text{C}$  в среднем по сортам был существенно лучшим.

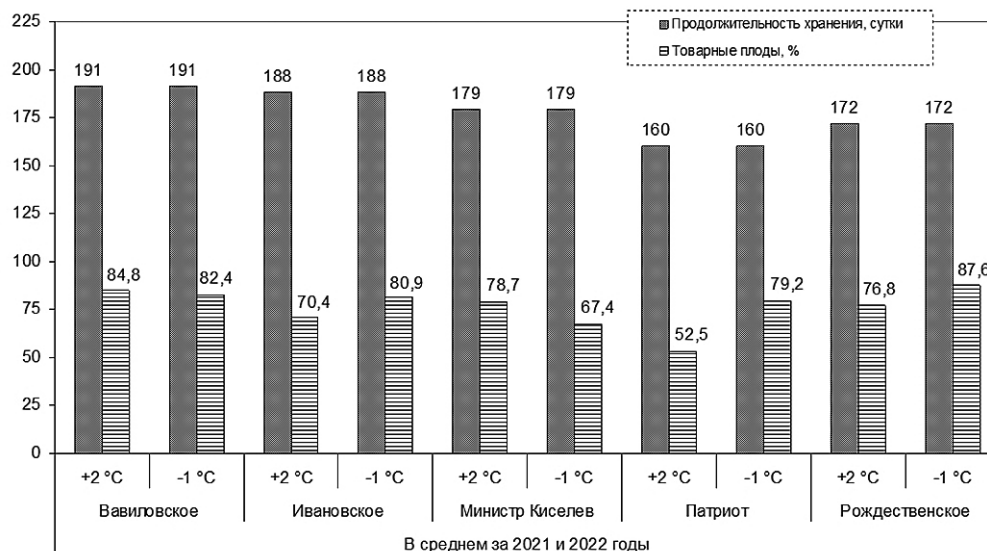
**Рисунок 3**

Выход здоровых (товарных) плодов из лучшего для сорта температурного режима в зависимости от продолжительности хранения в 2021 и 2022 годах (эмпирические данные) (визуализация SigmaStat 3.10)



**Рисунок 4**

Продолжительность хранения и выход здоровых плодов новых сортов в среднем за 2021–2022 годы (расчетные данные) (визуализация Microsoft Office Excel 2003 (11.8169.8172) SP3)



**Рисунок 5**

Плоды сорта Рождественское после снятия с хранения (урожай 2021 года, режим – 1 °C)



Различия по выходу здоровых плодов после хранения в 2021 и 2022 годах были существенными у сортов Ивановское, Министр Киселев и Патриот ( $HCP_{AB_{05}} = 8,45$ ).

В среднем по годам исследований и одинаковым режимам существенной разницы по выходу здоровых плодов не было ( $F_{AC} < F_{05}$ ). Выход товарных плодов в 2021 году составил в режиме +2 °C — 66,75%, в режиме -1 °C — 72,66%, в 2022 году соответственно — 78,48 и 86,29% (Таблица 3). Взаимодействие между факторами ABC не было существенным.

**Таблица 3**

Выход здоровых плодов на конец хранения, % (2021, 2022 годы). Оценка эффектов А, взаимодействия АВ, АС, АВС

Годы и сорта		Режимы С		Среднее	
А	В	+2 °C	-1 °C	А	AB
2021	Вавиловское	82,30	77,88		<b>80,09</b>
	Ивановское	63,02	71,50		<b>67,26</b>
	Министр Киселев	67,48	57,75		<b>62,62</b>
	Патриот	43,85	75,60		<b>59,73</b>
	Рождественское	77,12	80,58		<b>78,85</b>
<b>Среднее АС</b>		<b>66,75</b>	<b>72,66</b>	<b>69,71</b>	
2022	Вавиловское	87,20	86,85		<b>87,03</b>
	Ивановское	77,72	90,30		<b>84,01</b>
	Министр Киселев	89,90	77,08		<b>83,49</b>
	Патриот	61,08	82,70		<b>71,89</b>
	Рождественское	76,52	94,50		<b>85,51</b>
<b>Среднее АС</b>		<b>78,48</b>	<b>86,29</b>	<b>82,39</b>	
$HCP_{A_{05}} = 3,78$ $HCP_{C_{05}} = 3,78$ $HCP_{AB_{05}} = 8,45$ $F_{AC} < F_{05}$ $F_{ABC} < F_{05}$					



**Рисунок 6**

Плоды сорта Вавиловское после снятия с хранения (урожай 2021 года, режимы +2 °С и –1 °С слева на право)



Для сортов Ивановское, Патриот и Рождественское лучшим режимом хранения плодов был режим –1 °С, а для сортов Вавиловское (Рисунок 6) и Министр Киселев — +2 °С.

Плоды изучаемых сортов поражались в процессе хранения физиологическими расстройствами — 16,7 % (общее среднее) (Таблица 4). Из физиологических расстройств были зафиксированы следующие: загар — 2,5 %, перезревание — 3,5 %, побурение — 2,3 %, низкотемпературный ожог — 1,8 % (наименьшее поражение), низкотемпературное разложение мякоти — 1,9 % и горькая ямчатость — 4,7 % (наибольшее поражение).

Режим хранения (фактор В) оказывает существенное влияние на физиологические поражения плодов. Так, в среднем за 2021 и 2022 годы в режиме +2 °С было зафиксировано поражение плодов в количестве — 21,3 %, а в режиме –1 °С — 12,1 %. В режиме –1 °С плодов с горькой ямчатостью было 2,3 %, в режиме +2 °С — 7,1 %, а плодов с низкотемпературным ожогом было меньше в режиме +2 °С — 0,2 % против 3,4 % в режиме –1 °С. Аналогичная тенденция прослеживается и по поражению плодов

загаром, перезреванием, побурением (в режиме –1 °С поражений меньше) и низкотемпературному разложению мякоти (в режиме –1 °С поражений больше).

Плоды сорта Вавиловское в наибольшей степени, чем плоды других сортов поражаются загаром — 4,4 % (среднее по фактору А). В температурном режиме –1 °С загара на плодах этого сорта меньше, чем в режиме +2 °С — 3,4 % против 5,4 % соответственно. Сорт Ивановское абсолютно устойчив к поражению плодов загаром.

Больше других сортов перезреванию подвержены плоды сорта Ивановское — 9,0 % (среднее по фактору А), меньше других перезревают плоды сорта Вавиловское — 0,4 %. В режиме –1 °С плоды перезревают в меньшей степени — 4,7 %, чем в режиме +2 °С — 13,3 %. Плоды сорта Ивановское также сильнее других сортов подвержены побурению — 6,0 %. В режиме –1 °С плоды этого сорта буреют меньше, чем в режиме +2 °С — 2,6 % и 9,4 % соответственно. Плоды сортов Вавиловское и Министр Киселев чувствительны к низкотемпературным поражениям, как при температуре –1 °С, так и при +2 °С.

Результаты хранения плодов новых сортов яблони в зависимости от температурных режимов (средние расчетные данные за 2021 и 2022 годы)

Сорта  
Режимы хранения

**Рисунок 7**

Поражение плодов сорта Рождественское низкотемпературным разложением мякоти (урожай 2021 года, режим  $-1^{\circ}\text{C}$ )



Наибольшее поражения плодов получил сорт Министр Киселев от низкотемпературного ожога — 14,6% в режиме  $-1^{\circ}\text{C}$ . Плоды сорта Рождественское сильнее других сортов поражаются низкотемпературным разложением мякоти — 6,2% (7,0% в режиме  $-1^{\circ}\text{C}$  и 5,4% в режиме  $+2^{\circ}\text{C}$ ) (Рисунок 7). Самым неустойчивым к поражению плодов горькой ямчатостью был сорт Патриот. Поражение его плодов в режиме  $+2^{\circ}\text{C}$  — 35,0% (Рисунок 8), в режиме  $-1^{\circ}\text{C}$  — 11,2%. В минимальной степени горькой ямчатостью поражались плоды сорта Вавилосское — 0,2% в режиме  $-1^{\circ}\text{C}$  и 0,4% в режиме  $+2^{\circ}\text{C}$ .

Наибольшее поражение плодов от физиологических расстройств отмечено у сорта Патриот — 29,6%, наименьшее — у сорта Вавилосское — 8,0%.

Плоды изучаемых сортов в среднем за 2021 и 2022 годы повреждались в процессе хранения микробиологическими заболеваниями — 7,2% (общее среднее). В режиме  $+2^{\circ}\text{C}$  было зафиксировано 6,1%, в режиме  $-1^{\circ}\text{C}$  — 8,4%. (Таблица 4). Из микробиологических повреждений плодов были зафиксированы следующие: *Monilia fructigena* Pers. — плодовая гниль (монилиоз), *Penicillium expansum* Link. — серая плесневидная гниль (пенициллез), *Botrytis cinerea* Pers. — серая гниль (ботритиоз) и *Gloeodes pomigena* (Schw.) Colby. — сажистый грибок (налет).

Поражение плодов монилиозом происходит еще в саду на дереве или (при позднем заражении) во время упаковки, а также при повторном инфи-

**Рисунок 8**

Поражение плодов сорта Патриот горькой ямчатостью (урожай 2021 года, режим  $+2^{\circ}\text{C}$ )



цировании в период хранения плодов в холодильнике в результате контакта с больными плодами. При неблагоприятных для развития гнили условиях (низкие температуры хранения), конидиальное спороношение на поверхности плодов может и не развиваться<sup>5</sup>. Плод при этом мумифицируется, становясь гладким и блестящим с поверхностью черно-синеватого цвета («монахи») (Рисунок 9). Среди хранящихся плодов изучаемых сортов «монахи» выявлены в незначительных количествах — 0,1% (0,2% в режиме  $+2^{\circ}\text{C}$  и 0% в режиме  $-1^{\circ}\text{C}$ ).

**Рисунок 9**

Повреждение плодов сорта Ивановское монилиозом с последующей мумификацией (урожай 2021 года, режим  $+2^{\circ}\text{C}$ )



<sup>5</sup> Никитин, А. Л., & Макаркина, М. А. (2018). Рекомендации по длительному хранению плодов иммунных и высокоустойчивых к парше сортов яблони селекции ВНИИСПК в фруктохранилищах-холодильниках (для Средней полосы России). Орел: ВНИИСПК.

Поврежденные плоды в зависимости от степени повреждения, были отнесены к частично и абсолютно загнившим. Частично загнивших плодов в среднем по всем сортам и режимам хранения было 3,8% (2,9% в режиме +2 °С и 4,6% в режиме –1 °С). Абсолютно загнившие плоды распределились следующим образом — всего — 3,4%, 3,0% — в режиме +2 °С и 3,8% — в режиме –1 °С.

Режим хранения (фактор В) оказывал существенное влияние на микробиологические повреждения плодов при их частичном загнивании (НСР  $B_{05} = 1,5$ ). Больше других сортов повреждений от микробиологических заболеваний плодов от-

мечено у сорта Министр Киселев — 11,2% (10,0% в режиме +2 °С и 12,4% в режиме –1 °С), меньше других — у сорта Рождественское — 3,4% (3,1% в режиме +2 °С и 3,6% в режиме –1 °С).

Группа изучаемых сортов была проанализирована в аспекте устойчивости плодов к физиологическим расстройствам и микробиологическим заболеваниям. Для этого А.Л. Никитиным был разработан расчет относительного коэффициента устойчивости (ОКУ), который показывает степень устойчивости плодов изучаемых сортов при определенной продолжительности их хранения в различных температурных режимах (Таблица 5).

Таблица 5

Влияние сорта, температурного режима и продолжительности хранения на восприимчивость плодов яблони к функциональным расстройствам и микробиологическим заболеваниям во время хранения

Сорт	Вариант хранения	Продолжительность хранения, сутки	Физиологические расстройства,%							Микробиологические заболевания,%			Общий ОКУ
			Загар	Горькая ямчатость	ОКУ ▼ к загару и горькой ямчатости	Перезревание	Побурение мякоти	Низкотемпературный ожог	Низкотемпературное разложение мякоти	ОКУ к функциональным расстройствам	Микробиологические заболевания	ОКУ к микробиологическим заболеваниям	
Вавиловское	+2 °С	191	**	–*	1,2	–*	–*	–*	–*	0,8	***	1,5	0,9
	–1 °С		**	–*	1,2	–*	–*	*	*	0,9	***	1,5	1,0
Ивановское	+2 °С	188	–	–	0	****	***	–	–	1,2	***	1,5	1,2
	–1 °С		–	–	0	**	*	–	*	0,7	****	2,0	1,0
Министр Киселёв	+2 °С	179	**	–	1,0	**	*	–*	–*	0,7	***	1,5	1,1
	–1 °С		*	–	0,5	–*	–*	****	*	1,2	****	2,0	1,3
Патриот	+2 °С	160	**	****	3,0	**	–*	–	–	1,4	*	0,5	1,2
	–1 °С		–	****	2,0	*	–*	–	–	0,9	***	1,5	1,1
Рождественское	+2 °С	172	**	–	1,0	**	***	–	**	1,5	**	1,0	1,4
	–1 °С		–	–	0	*	–*	–	***	0,8	**	1,0	0,8

Примечание: (–) — отсутствие расстройства (0 %).

(\*) — минимальная степень (<1 %).

(\*) — слабая степень (1–3 %).

(\*\*) — средняя степень (3–6 %).

(\*\*\*) — сильная степень (6–10 %).

(\*\*\*\*) — очень сильная степень (>10 %).

$\nabla$  При расчете Относительного Коэффициента Устойчивости (ОКУ) к функциональным расстройствам, сумма (\*) и (–), переводится в числовые значения (\* = 1, –\* = 0,5) и делится на количество функциональных расстройств (6).

При расчете ОКУ к загару и горькой ямчатости, числовые значения делятся на 2 (загар и горькая ямчатость).

При расчете ОКУ к микробиологическим заболеваниям, числовые значения делятся на 2 (частичное загнивание и абсолютное загнивание).

При расчете общего ОКУ к физиологическим расстройствам и микробиологическим заболеваниям, числовые значения делятся на 8 (количество функциональных расстройств (6) + частичное загнивание и абсолютное загнивание (2)). При коэффициенте от 0 по 1 плоды считаются относительно устойчивыми.



Выявлена генотипическая (сортовая) устойчивость плодов изучаемой группы сортов к физиологическим расстройствам и микробиологическим заболеваниям. По степени устойчивости к большинству поражений и повреждений ряд сортов отнесены к группе относительно устойчивых (общий ОКУ  $\leq 1$ ). Так, плоды сортов Вавиловское, Ивановское и Рождественское имели общие ОКУ от 0,8 у сорта Рождественское (режим  $-1^{\circ}\text{C}$ ), 0,9 у сорта Вавиловское (режим  $+2^{\circ}\text{C}$ ) до 1,0 у сортов Вавиловское (режим  $-1^{\circ}\text{C}$ ) и Ивановское (режим  $-1^{\circ}\text{C}$ ).

По степени устойчивости плодов к физиологическим расстройствам все сорта отнесены к группе относительно устойчивых (ОКУ от 0,7 — сорта Ивановское (режим  $-1^{\circ}\text{C}$ ) и Министр Киселев (режим  $+2^{\circ}\text{C}$ ) до 0,8 — сорта Вавиловское (режим  $+2^{\circ}\text{C}$ ) и Рождественское (режим  $-1^{\circ}\text{C}$ ) и до 0,9 — Вавиловское (режим  $-1^{\circ}\text{C}$ ) и Патриот (режим  $-1^{\circ}\text{C}$ ).

По степени устойчивости к загару и горькой ямчатости (основные физиологические расстройства, которые приносят главный ущерб плодам значительной части промышленных сортов при их коммерческом хранении), расстройствам, к изучению которых привлечено внимание ученых многих

стран (Lu et al., 2011; Gapper et. al., 2017; Karagiannis et. al., 2018), среди изучаемых сортов наиболее устойчивыми были Министр Киселев — ОКУ = 0,5 в режиме  $-1^{\circ}\text{C}$  и 1,0 в режиме  $+2^{\circ}\text{C}$  и Рождественское — 0 и 1,0 соответственно. Плоды сорта Ивановское были абсолютно устойчивы к загару и горькой ямчатости ОКУ = 0.

Микробиологические заболевания плодов, заражение которыми в основном происходит еще в саду и проявляется при хранении, оказывали влияние на общий процент потерь после снятия плодов с хранения. Меньше других сортов повреждались плоды Патриота — ОКУ = 0,5 (режим  $+2^{\circ}\text{C}$ ) и Рождественского — 1,0 в обоих режимах хранения.

### «Остаточный эффект хранения»

Был изучен временной период, в течение которого здоровые плоды изучаемых сортов сохраняют товарные и потребительские качества после снятия их с хранения в условиях комнатной температуры ( $18-20^{\circ}\text{C}$ ) в течение 5–10 суток (Таблица 6) — «остаточный эффект хранения» (ОЭХ).

Таблица 6

Временной период сохранения плодами товарных и потребительских качеств после снятия их с хранения в условиях комнатной температуры

Урожай, год	Сорт	Вариант хранения	Выложено на «ОЭХ», шт.	Нахождение при комнатной температуре, сутки	Физиологические расстройства					Примечание	Общее поражение, %
					Здоровые, шт.	Загар, шт.	Перезревание, шт.	Побурение мякоти, шт.	Увядание, шт.		
2021	Вавиловское	$+2^{\circ}\text{C}$	5	10	1	4	+	0	0		80+
		$-1^{\circ}\text{C}$	5		3	2	+	0	0		40+
	Ивановское	$+2^{\circ}\text{C}$	5	5	3	0	0	2	+	Общее внутреннее побурение	40+
		$-1^{\circ}\text{C}$	5		2	0	0	3	0		60
	Министр Киселёв	$+2^{\circ}\text{C}$	5	4	4	1	0	0	0		20
		$-1^{\circ}\text{C}$	5		3	2	0	+	0		40+
	Патриот	$+2^{\circ}\text{C}$	5	6	3	2	0	0	+		40+
		$-1^{\circ}\text{C}$	5		4	1	0	0	+		20+
	Рождественское	$+2^{\circ}\text{C}$	5	4	4	1	0	0	0		20
		$-1^{\circ}\text{C}$	5		3	0	2	0	0		40

Окончание Таблицы 6

Уро- жай, год	Сорт	Вариант хранения	Выложено на «ОЭХ», шт.	Нахождение при комнат- ной температуре, сутки	Физиологические расстройства					Примечание	Общее поражение, %
					Здоровые, шт.	Загар, шт.	Перезревание, шт.	Побурение мякоти, шт.	Увядание, шт.		
2022	Вавиловское	+2 °С	5	4	5	0	0	+	+	Побурение сердцевины	0+
		-1 °С	5		1	4	0	+	0	Восковой налет	80+
	Ивановское	+2 °С	5	6	1	0	4	+	0	Внутреннее побурение	80+
		-1 °С	5		2	0	1	2	0	Незначительное внутреннее побурение	60
	Министр Киселёв	+2 °С	5	5	3	2	0	0	0		40
		-1 °С	5		2	3	0	0	0		60
	Патриот	+2 °С	5	6	4	1	0	0	+	Внутреннего побурения нет	20+
		-1 °С	5		5	0	0	0	+	Внутреннего побурения нет	0+
	Рождественское	+2 °С	5	5	3	2	0	0	0		40
		-1 °С	5		4	1	0	0	0		20
Среднее за 2021 – 2022 гг.	Вавиловское	+2 °С	5	7	3	2	+	+	+	Побурение сердцевины	40+
		-1 °С	5		2	3	+	+	0	Восковой налет	60+
	Ивановское	+2 °С	5	6	2	0	2	+	+	Внутреннее побурение	60+
		-1 °С	5		2	0	0,5	2,5	0	Внутреннее побурение	60
	Министр Киселёв	+2 °С	5	5	3,5	1,5	0	0	0		30
		-1 °С	5		2,5	2,5	0	+	0		50+
	Патриот	+2 °С	5	6	3,5	1,5	0	0	+	Внутреннего побурения нет	30+
		-1 °С	5		4,5	0,5	0	0	+	Внутреннего побурения нет	10+
	Рождественское	+2 °С	5	5	3,5	1,5	0	0	0		30
		-1 °С	5		3,5	0,5	1	0	0		30
Среднее за 2021 – 2022 гг. по режимам		+2 °С	5	6	3,1	1,3	0,4	0	0		38+
		-1 °С			2,9	1,3	0,3	0,5	0		42+

Примечание: (1) – (20 % поражения).

(2) – (40 %).

(3) – (60 %).

(4) – (80 %).

(5) – (100 %).

(+) – наличие сопутствующего поражения.

(0) – отсутствие поражения.

В среднем за 2 года исследований плоды из режима +2 °С лучше сохраняли товарные и потребительские качества после их снятия с хранения в условиях комнатной температуры (ОЭХ). Общие потери плодов от физиологических расстройств из этого режима после 6 суток хранения при температуре + 20 °С составили 38%, при 42% из режима -1 °С.

Меньше всего общих потерь имели плоды сортов Вавиловское из режима +2 °С в 2022 году после нахождения в течение 4 суток при комнатной температуре — 0%, но с наличием сопутствующих потерь в виде единичного побурения сердцевины и увядания, а также плоды сорта Патриот из режима -1 °С в том же году после нахождения

при комнатной температуре в течение 6 суток — 0 % и сопутствующем увядании. Тем не менее, группа изучаемых сортов обладает низким ОЭХ плодов, что обусловлено недостаточным временным периодом для их коммерческой реализации.

## ВЫВОДЫ

Этапная цель исследований достигнута. Метеорологические условия учетных периодов вегетации, степень зрелости, различные температурные режимы холодильных камер и продолжительность хранения плодов в холодильных камерах оказывают влияние на выход здоровых плодов по сортам. Режим хранения  $-1^{\circ}\text{C}$  в среднем по сортам был существенно лучшим. По степени устойчивости к большинству поражений от физиологических расстройств и повреждений от микробиологических заболеваний ряд сортов относительно устойчив. Относительная устойчивость плодов к физиологическим расстройствам и микробиологическим заболеваниям является непостоянным свойством и может изменяться под влиянием различных факторов, которые обуславливают изменение физиологического состояния плодов.

Причины падения или повышения устойчивости плодов к поражениям и повреждениям во время хранения могут обуславливаться различными условиями, имеющими место как до, так и в процессе их длительного хранения. В связи с этим, все технологические приемы, применяемые, как при уборке плодов в саду, так и в процессе их хранения, должны сводиться к созданию наиболее благоприятных для них условий, обеспечивающих сохранение присущей им устойчивости. Условия и продолжительность хранения плодов должны способствовать сохранению плодами нормального хода метаболизма и предотвращать обменные нарушения.

Повышение лежкости и сохранение качества плодов после их хранения в различных температурных условиях холодильника возможны лишь при всестороннем изучении процессов, обуславливающих преждевременные потери.

В целом группа исследованных сортов имеет очень короткий период коммерческой реализации, о чем свидетельствует «остаточный эффект хранения» плодов при комнатной температуре. На следующем

этапе исследований необходима корректировка температурных условий и продолжительности хранения плодов изучаемых сортов.

Определен временной этап продолжения исследований по изучаемой группе сортов, который ограничен еще двумя годами. Возможность применения выбранных методов и объектов исследования ограничена описанными. Дальнейшие исследования будут также направлены на применение прогностических методов исследования, одним из которых является регрессионный, используемый в садоводстве для определения и оценки взаимосвязи между зависимыми и независимыми переменными и может быть применен для моделирования будущей взаимосвязи между ними.

## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Андрей Леонидович Никитин:** администрирование проекта и курирование исследования, концептуализация, создание модели исследования, формулирование исследовательских целей и задач, проведение эксперимента, сбор, администрирование и курирование данных, проведение и анализ исследования, применение статистических методов для анализа данных исследования, подготовка черновика рукописи, создание рукописи, ее комментирование, рецензирование и редактирование, визуализация/представление данных.

**Маргарита Алексеевна Макаркина:** руководство исследованием, администрирование проекта, проведение эксперимента, администрирование данных, участие в исследовательском процессе, комментирование черновика рукописи, комментирование, рецензирование и редактирование рукописи до ее публикации.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

- Дементьева, М. И., & Выгонский, М. И. (1988). *Болезни плодов, овощей и картофеля при хранении*. Москва: Агропромиздат.
- Dementyeva, M. I., & Vygonsky, M. I. (1988). *Diseases of fruits, vegetables, and potatoes during storage*. Moscow: Agropromizdat. (In Russ.)
- Никитин, А. Л., & Макаркина, М. А. (2020). *Хранение яблок: Прошлое, настоящее, будущее*. Орел: Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур.
- Nikitin, A. L., & Makarkina, M. A. (2020). *Apple storage: Past, present, future*. Orel: All-Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding. (In Russ.)
- Никитин, А. Л. (1999). *Качество и лежкость плодов новых сортов иммунных и высокоустойчивых к парше сортов яблони, выращенных в садах интенсивного типа* [Кандидатская диссертация, Мичуринский государственный аграрный университет]. Россия.
- Nikitin, A. L. (1999). *Quality and storability of fruits of new immune and highly scab-resistant apple varieties grown in intensive orchards* [Candidate dissertation, Michurinsk State Agrarian University]. Russia. (In Russ.)
- Никитин, А. Л., & Макаркина, М. А. (2019). Влияние метеоусловий на лежкость плодов иммунных к парше колонновидных сортов яблони. *Техника и технология пищевых производств*, 49(4), 545–554. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-4-545-554>
- Nikitin, A. L., & Makarkina, M. A. (2019). The influence of weather conditions on the storability of fruits of scab-immune columnar apple varieties. *Technique and Technology of Food Production*, 49(4), 545–554. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-4-545-554>
- Никитин, А. Л., & Макаркина, М. А. (2021). Деструктивные гидротермические факторы вегетационного периода за месяц до уборки урожая, увеличивающие потери плодов яблони от «загара» во время хранения. *Вестник Российской сельскохозяйственной науки*, (6), 23–26. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2021/6/23-26>
- Nikitin, A. L., & Makarkina, M. A. (2021). Destructive hydrothermal factors of the vegetative period a month before harvest increasing apple fruit losses from “sunburn” during storage. *Bulletin of the Russian Agricultural Science*, (6), 23–26. (In Russ.) <https://doi.org/10.30850/vrsn/2021/6/23-26>
- Седова, З. А., & Гудковский, В. А. (1999). *Изучение лежкости плодов семечковых культур: Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур*. Орел: Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур.
- Sedova, Z. A., & Gudkovsky, V. A. (1999). *Study of the storability of pome fruit: Program and methodology for the variety study of fruit, berry, and nut crops*. Orel: All-Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding. (In Russ.)
- Anese, R. de Oliveira, Brackmann, A., Wendt, L. M., Thewes, F. R., Schultz, E. E., Ludwig, V., & Berghetti, M. R. P. (2019). Interaction of 1-methylcyclopropene, temperature and dynamic controlled atmosphere by respiratory quotient on “Galaxy” apples storage. *Food Packaging and Shelf Life*, 20, Article 100246. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.07.004>
- Avilova, S. V., Kornienko, V. N., Gryzunov, A. A., & Vankova, A. A. (2019). An effect of storage and transportation temperature on quantitative and qualitative composition of microflora of plant products. *Food Systems*, 2(4), 42–47. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-4-42-47>
- Brizzolara, S., Manganaris, G. A., Fotopoulos, V., Watkins, C. B., & Tonutti, P. (2020). Primary Metabolism in Fresh Fruits During Storage. *Frontiers in Plant Science*, 4, Article 80. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00080>
- Bui, T. A. T., Strid, H., & Molin M. (2021). Influence of weather conditions on the quality of “Ingrid Marie” apples and their susceptibility to grey mould infection. *Journal of Agriculture and Food Research*, 3, 100104. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100104>
- Cao, M., Wang, D., Qiu, L. Ren, X., & Ma, H. (2021). Shelf-life prediction of “Royal Gala” apples based on quality attributes and storage temperature. *Horticultural Science and Technology*, 39(3), 343–355. <https://doi.org/10.7235/HORT.20210031>
- Crouch, E. M., Jooste, M., Majoni, T. J., Crouch, I. J., & Bergman, H. (2015). Harvest maturity and storage duration influencing flesh browning in south african “Cripps’ pink” apples. *Acta Horticulturae*, 1079, 121–127. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1079.11>
- Dris, R. & R. Niskanen. (1999). Quality changes of ‘Lobo’ apples during cold storage. *International Symposium on Effects of Pre-and Post-harvest Factors on Storage of Fruit* (pp. 125–131). ISHS.
- Fernandes, R. C., Steffens, C. A., Anami, J. M., Mosquera, D. J. C., Amarante, C. V. T., & Brackmann, A. (2021). Quality of “Cripps’ pink” apples stored under controlled atmosphere with ultra-low and extremely low oxygen partial pressures or treated with 1-methylcyclopropene. *Bragantia*, 80, Article e5921. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.2021115>
- Gapper, N. E., Bowen, J. K., & Brummell, D. A. (2023). Biotechnological approaches for predicting and controlling apple storage disorders. *Current Opinion in Biotechnology*, 79, Article 102851. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2022.102851>
- Gapper, N. E., Hertog, M. L. A. T. M., Lee, J. Buchanan, D. A., Leisso, R. S., Fei, Z., Qu, G., Giovannoni, J. J., Johnston, J. W., Schaffer, R. J., Nicolaï, B. M., Mattheis, J. P. Watkins, C. B., & Rudell, D. R. (2017). Delayed response to cold stress is characterized by successive metabolic shifts culminating in apple fruit peel necrosis. *BMC Plant Biology*, 17, Article 77. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1030-6>
- Gorzalany, J., Belcar, J., Kuźniar, P., Niedbała, G., & Pentoś, K. (2022). Modelling of mechanical properties of fresh and stored fruit of large cranberry using multiple linear regression and machine learning. *Agriculture*, 12(2), 200. <https://doi.org/10.3390/agriculture12020200>



- Gudkovsky, V. A., Kozhina, L. V., Nazarov, Yu. B. Sutormina, A. V., & Akishin, D. V. (2021). Keeping ability of apple fruits of new cultivars under different storage technologies. *IOP Conference Series. Earth and Environmental Science*, 845(1), Article 012099. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/845/1/012099>
- Huang, K., Fu D., Jiang, Y., Liu, H., Shi, F., Wen, Y., Cai, C., Chen, J., Ou, L., & Yan Q. (2023). Storability and linear regression models of pericarp browning and decay in fifty litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) cultivars at room temperature storage. *Foods*, 12(8), 1725. <https://doi.org/10.3390/foods12081725>
- Jan, I., & Rab, A. (2012). Influence of storage duration on physico-chemical changes in fruit of apple cultivars. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 22(3), 708–714.
- Jobling, J.J. and McGlasson, W.B. (1995). A comparison of ethylene production, maturity and controlled atmosphere storage life of “Gala”, “Fuji” and “Lady Williams” apples (*Malus x domestica* Borkh.). *Postharvest Biology and Technology*, 6, 209–218.
- Kader, A. A. (1986). Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food Technology*, 40, 99–104.
- Karagiannis, E., Michailidis, M., Tanou, G., Samiotaki, M., Karamanoli, K., Avramidou, E., Ganopoulos, I., Madesis, P., & Molassiotis, A. (2018). Ethylene-dependent and-independent superficial scald resistance mechanisms in ‘Granny Smith’ apple fruit. *Scientific Reports*, 8(1), Article 11436. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29706-x>
- Khorshidi, J. (2010). Storage temperature effects on the postharvest quality of apple (*Malus domestica* Borkh. cv. Red Delicious). *New York Science Journal*, 3(3), 67–70.
- Lee, S. K., & Kader, A. A. (2020). Preharvest and postharvest factors influencing Vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20, 207–220. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00133-2](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00133-2)
- Lu, X., Liu, X., Li, S., Wang, X., & Zhang, L. (2011). Possible mechanisms of warming effects for amelioration of superficial scald. *Postharvest Biology and Technology*, 62(1), 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.04.008>
- McCormick, R., Neuwald, D. A., & Streif, J. (2012). Commercial apple ca storage temperature regimes with 1-mcp (smartfreshtm): benefits and risks. *Acta Horticulturae*, 934, 263–270. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.934.32>
- McCormick, R. J., Biegert, K., & Streif, J. (2021). Occurrence of physiological browning disorders in stored “Braeburn” apples as influenced by orchard and weather conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 177, Article 111534. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111534>
- Mohebi, M., Babalar, M., Askari, M.A., Talaei, A., & Barker, A.V. (2017). Effects of harvest date on apple fruit quality at harvesting and after cold storage. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 4(1), 21–27. <https://doi.org/10.22059/ijhst.2018.210156.134>
- Nikitin, A. L., & Makarkina, M. A. (2021). Some indicators of the quality and cold storage of the fruit of new scab immune columnar apple cultivars. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 640, Article 062013. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/6/062013>
- Osinenko, P., Biegert, K., McCormick, R. J., Göhr, T., Devadze, G., Streif, J., & Streif, S. (2021). Application of non-destructive sensors and big data analysis to predict physiological storage disorders and fruit firmness in “Braeburn” apples. *Computers and Electronics in Agriculture*, 183, 106015. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2021.106015>
- Oyenihi, A. B., Belay, Z. A., Mditshwa, A., & Caleb, O. J. (2022). “An apple a day keeps the doctor away”: The potentials of apple bioactive constituents for chronic disease prevention. *Journal of Food Science*, 87(6), 2291–2309. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16155>
- Prange, R. K., & Wright, A. H. (2023). A review of storage temperature recommendations for apples and pears. *Foods*, 12(3), 466. <https://doi.org/10.3390/foods12030466>
- Shaw, J. K. (1911). Climatic adaptations of apple varieties. *Thirty-Third Annual Report of the Massachusetts Agricultural Experiment Station*, 23, 177–245.
- Soto-Bravo, F., & González-Lutz, M. I. (2019). Analysis of statistical methods to evaluate the performance of simulation models in horticultural crops. *Agronomía Mesoamericana*, 30(2), 517–534. <https://doi.org/10.15517/am.v30i2.33839>
- Van Pham, T., McConchie, R., Morris, S., Tanner, D., & Herbert, R. (2008). Prediction of firmness change in “Cripps’ pink” apple during storage. *Acta Horticulturae*, 803, 319–326. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.803.41>
- Watkins, C. B., & Thompson, C. J. (1992). An evaluation of microperforated polyethylene film bags for storage of “Cox’s Orange Pippin” apples. *Postharvest Biology and Technology*, 2, 89–100.
- Zanella, A., & Rossi, O. (2015). Post-harvest retention of apple fruit firmness by 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment or dynamic CA storage with chlorophyll fluorescence (DCA-CF). *European Journal of Horticultural Science*, 80(1), 11–17. <http://dx.doi.org/10.17660/eJHS.2015/80.1.2>
- Zhang, B. B., Ma, R. J., Cai, Z. X., Yan, Z. M., & Yu, M. L. (2021). A linear regression freezing point prediction model for peach (*Prunus persica*) fruits. *Acta Horticulturae*, 1304, 299–308. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1304.41>
- Zhou, C. Y., Cheng, Q. W., Chen, T., Meng, L. L., Sun, T. G., Hu, B., Yang, J., & Zhang, D. Y. (2022). Prediction of banana quality during storage by brown area. *Acta Aliment.*, 51(4), 542–551. <https://doi.org/10.1556/066.2022.00154>

УДК 636.085:585.77

# Влияние тяжелых металлов на перспективы использования личинок *Hermetia illucens* для переработки отходов: обзор предметного поля

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:**  
**Мещеряков Анатолий Анатольевич**  
E-mail: anmeshcheryak@gmail.com

**ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:**  
данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

**для цитирования:**  
Мещеряков, А.А., Ситнов, В.Ю., & Рябухин, Д.С. (2023). Влияние тяжелых металлов на перспективы использования личинок *Hermetia illucens* для переработки отходов. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 165–174. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.464>

**ПОСТУПИЛА:** 18.06.2023

**ПРИНЯТА:** 15.12.2023

**ОПУБЛИКОВАНА:** 30.12.2023

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:**  
авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ:**  
Статья опубликована в рамках выполнения тем НИР FGUS 2022-0017 и FGUS 2022-0018 государственного задания ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН.



А. А. Мещеряков, В. Ю. Ситнов, Д. С. Рябухин

## АННОТАЦИЯ

**Введение:** Насекомые считаются многообещающим альтернативным источником белка для животных. Их можно выращивать на органических отходах, что одновременно позволяет снизить затраты на утилизацию и повторно использовать побочные продукты сельского хозяйства. Однако, дальнейшее использование полученной биомассы может быть небезопасно, т.к. насекомые способны аккумулировать тяжелые металлы и передавать их дальше по пищевой цепи. Более того, тяжелые металлы также влияют на скорость роста и микробиом личинок.

**Цель:** Целью данной работы является анализ современных представлений о влиянии аккумуляции тяжелых металлов в личинках мухи Черная львинка на потенциал применения данного вида насекомых для переработки отходов с дальнейшим использованием в качестве кормовой добавки.

**Материалы и методы:** Поиск информации осуществлялся в базах PubMed и ScienceDirect, по ключевым словам: «black soldier fly heavy metals», «black soldier fly heavy metals bioaccumulation», «Hermetia illucens heavy metals», «Hermetia illucens heavy metals bioaccumulation». Принимались во внимание работы, опубликованные с 2000 по 2023 годы. В результате в основу данного обзора вошли 54 источника на английском языке.

**Результаты:** Основными факторами, определяющими влияние тяжелых металлов на применение личинок Черной львинки, полученных при переработке органических отходов, в качестве кормовых добавок, являются: способность биоаккумуляции тяжелых металлов насекомыми, содержание металлов в кормовом субстрате, стадия развития Черной львинки, способы переработки личинок перед использованием в качестве кормовых добавок, а также способность животных, употребляющих в пищу Черную львинку, накапливать тяжелые металлы. В большинстве рассмотренных работ объектами исследования являлись такие элементы, как Cd, Cu, Fe, Hg, Pb, Zn, что является оправданным и необходимым в случае производства кормов по причине токсичности перечисленных металлов. Однако, в случае использования личинок мухи Черная львинка для очистки донных отложений и переработки отходов следует также уделять внимание остальным тяжелым металлам.

**Выводы:** К способам, снижающим содержание исследуемых элементов в данном виде насекомых, можно отнести: использование «чистого» кормового субстрата, разбавление отходов «чистым» кормовым субстратом, очистка при дальнейшей переработке биомассы личинок в корм. Исследования показывают, что целесообразным с точки зрения уменьшения дальнейшей передачи по пищевой цепочке тяжелых металлов является использование черной львинки в качестве кормовой добавки, а не самостоятельного корма.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

насекомые, личинки мухи Черная львинка, тяжелые металлы, безопасность, корма

# The Impact of Heavy Metals on the Prospects of Using *Hermetia Illucens* Larvae for Waste Processing: A Scoping Review

All-Russia Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS, St. Petersburg, Russian Federation

**CORRESPONDENCE:**  
**Meshcheriakov Anatolii Anatolevich**  
 E-mail: anmeshcheryak@gmail.com

**DATA AVAILABILITY:**  
 Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

**FOR CITATIONS:**  
 Meshcheriakov, A.A., Sitnov, V.Yu., & Ryabukhin, D.S. (2023). The impact of heavy metals on the prospects of using hermetia illucens larvae for waste processing: A scoping review. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 165–174. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.464>

**RECEIVED:** 18.06.2023

**ACCEPTED:** 15.12.2023

**PUBLISHED:** 30.12.2023

**DECLARATION OF COMPETING INTEREST:** none declared.

**FUNDING:**  
 The article was published within the framework of the implementation of research topics FGUS 2022-0017 and FGUS 2022-0018 of the state assignment of the Federal State Budgetary Institution "Federal Research Center for Food Systems named after V.M. Gorbатов" RAS.



Anatolii A. Meshcheriakov, Veniamin Y. Sitnov, Dmitry S. Ryabukhin

## ABSTRACT

**Background:** Insects are considered a promising alternative source of protein for animals. They can be grown on organic waste, which simultaneously reduces disposal costs and reuses agricultural by-products. However, further use of the obtained biomass may be unsafe, because insects are capable of accumulating heavy metals and transmitting them further along the food chain. Moreover, heavy metals also affect the growth rate and microbiome of larvae.

**Purpose:** Thus, the purpose of this work is to analyze modern ideas about the influence of the accumulation of heavy metals in the larvae of the black soldier fly on the potential of using this type of insect for waste processing with further use as a feed additive.

**Materials and Methods:** The search for information was carried out in the PubMed and ScienceDirect databases using the keywords: "black soldier fly heavy metals", "black soldier fly heavy metals bioaccumulation", "Hermetia illucens heavy metals", "Hermetia illucens heavy metals bioaccumulation". Works published from 2000 to 2023 were taken into account. As a result, 54 English language sources were used as the basis for this review.

**Results:** The main factors determining the influence of heavy metals on the use of Black Soldier Fly larvae obtained from processing organic waste as feed additives are: the ability of bioaccumulation of heavy metals by insects, the content of metals in the feed substrate, the stage of development of the Black Soldier Fly, methods of processing larvae before use as feed additives, as well as the ability of animals that eat black soldier fly to accumulate heavy metals. In most of the studies reviewed, the objects of study were elements such as Cd, Cu, Fe, Hg, Pb, Zn, which is justified and necessary in the case of feed production due to the toxicity of the listed metals. However, in the case of using black soldier fly larvae for cleaning bottom sediments and recycling waste, attention should also be paid to other heavy metals.

**Conclusion:** Methods that reduce the content of the studied elements in this type of insect include: using a "clean" feed substrate, diluting waste with a "clean" feed substrate, and cleaning the biomass of larvae into feed during further processing. Research shows that it is advisable to use black soldier fly as a feed additive, rather than as a feed on its own, from the point of view of reducing further transmission of heavy metals through the food chain.

## KEYWORDS

insects, black soldier fly larvae, heavy metals, safety, feed

## ВВЕДЕНИЕ

Увеличение численности населения земного шара приводит к острой конкуренции мирового сообщества за ресурсы. Но несмотря на достижения агропромышленного комплекса, развития селекции и основных направлений биотехнологии, одним из ключевых факторов, сдерживающих развитие ряда стран, является отсутствие доступных источников белковой пищи. Традиционные протеины постепенно уступают свое доминирующее место новым, альтернативным продуцентам белка, но все равно кратно превосходят конкурентов по своим объемам. Рост числа сельскохозяйственных животных приводит к колоссальному ухудшению экологической обстановки планеты Земля, в частности Китая (Wu et al., 2020). С каждым годом проблема загрязнения навозом земельного фонда привлекает все большее внимание общественности, ввиду насыщения его тяжелыми металлами, остаточными антибиотиками и метаболитами активных фармацевтических субстанций, включаемых в состав кормовых премиксов (Yan-xia Li et al., 2010; Zhu et al., 2013). Значительный негативный вклад в экологию вносит образование парниковых газов, возникающих при разложении продуктов жизнедеятельности, особенно при компостировании. Разрабатываемые методы переработки навоза с получением метана и удобрений, требуют больших капиталовложений в оборудование и технологии, также данное направление отличается длительностью процесса (Awasthi et al., 2022).

Во всем мире, только за 2014 год, накопление навоза от выращивания птицы и животных, оценивалось в 587 миллиардов тонн в год (Afazeli, Jafari, Rafiee, & Nosrati, 2014). Его утилизация является актуальной проблемой, требующей немедленного решения. Тем не менее, это также проблема в отношении безопасности кормов для насекомых и производства продуктов питания. Медь (Cu), кадмий (Cd), свинец (Pb) и алюминий (Al) содержатся в навозе домашней птицы и скота (Moral et al., 2008; Wang et al., 2013), показатели которых значительно превышают национальные ограничения Китая по содержанию тяжелых металлов в кормах (GB13078–2001) и пороговые значения ЕС в отношении нежелательных веществ в кормах для животных (2002/32/EC). Например, исследование образцов экскрементов с ферм на северо-востоке Китая, показало типичное содержания кадмия

в свином навозе 15,1 мг/кг сухого вещества (Gao et al., 2017). Это намного выше допустимых пределов в ЕС и Китае, которые составляют 2 мг/кг сухого вещества. Другие исследования (Wang et al., 2014; Wang et al., 2013), показали, что с 1990 по 2010 год в одном из сельскохозяйственных регионов Китая, содержание Cu, Cd и ряда других металлов в помете животных с ферм неуклонно росло.

Конверсия животных экскрементов насекомыми, является новым, быстрым и экономически эффективным методом переработки. Среди многочисленных насекомых-сапрофагов, личинки мухи Чёрная львинка (Black Soldier Flies; BSF; *Hermetia illucens*) (Diptera: Stratiomyidae) и домашней мухи (House Fly; HF; *Musca domestica*) (Diptera: Muscidae) рассматриваются как наилучшие кандидаты по утилизации органических отходов, дополнительно давая энтомологическую биомассу, богатую белками и жирами (Wynants et al., 2019). Однако, тяжелые металлы, содержащиеся в экскрементах, могут накапливаться в личинках, циркулируя дальше по пищевой цепи (Diener et al., 2015). Токсичные металлы представляют потенциальную опасность для насекомых, предназначенных для кормления животных (Schrögel & Wätjen, 2019). Несколько исследований, изучающих накопление тяжелых металлов в насекомых на их развитие и рост, свидетельствует, что характер накопления токсичных элементов различается по применяемому металлу и используемым концентрациям (Biancarosa et al., 2018; Cai et al., 2018; Diener et al., 2015; Gao et al., 2017; Wu et al., 2020).

Каждое из предложенных насекомых-сапрофитов, обладает своим набором сильных и слабых сторон. Домашняя муха, развивается быстрее, переносит больший диапазон абиотических условий, требует меньше знаний и опыта при размножении. К недостаткам следует отнести их меньший размер, большую вероятность переноса болезней во взрослом возрасте (активно передвигаются и питаются). Также домашняя муха традиционно используется в качестве модельного организма в научных исследованиях на протяжении десятилетий, в то время как муха Чёрная львинка стала популярна только в последние десятилетия, и важные аспекты ее биологии до сих пор не известны (van Huis, Oonincx, Rojo, & Tomberlin, 2020). Несравненным преимуществом BSF является ее всеядность. В настоящее время в мире уже проведен ряд работ, посвященных мо-



делированию и изучению процесса переработки органических отходов личинками BSF (Gold et al., 2018; Huang et al., 2021; Liew et al., 2022; Liu et al., 2020; Miranda et al., 2021; Pleissner & Rumpold, 2018; Salam et al., 2021; Song et al., 2021; Xu et al., 2021; Yuvaraj et al., 2021; Zhang et al., 2021).

Необходимым условием создания модели перерабатывающей установки органических отходов, является стабильная, дающая жизнеспособные яйца и производящая здоровое потомство популяция сапрофитных насекомых. Тяжелые металлы могут влиять на особенности жизненного цикла насекомых. Загрязненные медью и свинцом растения отрицательно влияют на плодovitость и скорость естественного роста капустной тли *Brevicoryne brassicae* L. (Görür, 2006), снижение массы тела потомства жуков *Pterostichus oblongopunctatus* так же наблюдается в загрязненной металлами среде (Lagisz & Laskowski, 2008). Также, обнаруживается четкая взаимосвязь между увеличивающейся концентрацией токсикантов в субстрате и усилением негативного воздействия на детерминанты жизненного цикла диких пчел, *Osmia rufa* (Morón et al., 2014).

Зачастую к тяжелым металлам относят и полуметаллы. Поэтому, в данном исследовании термин «тяжелые металлы» включает в себя помимо металлов также и такие токсические элементы, как As и Se. Основной целью данного обзора является анализ влияния тяжелых металлов на потенциал применения Черной львинки (BSF) при переработке отходов, с дальнейшим использованием личинок (BSFL) в качестве кормовой добавки.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Базы данных и протокол

Проводили поиск источников, содержащих информацию о биоаккумуляции тяжелых металлов личинками мух Черная львинка (Black Soldier Fly), в базах данных ScienceDirect и PubMed.

### Критерии включения источников

Использовали следующие ключевые слова для первичного поиска: «*Hermetia illucens* биоаккумуля-

ция тяжелых металлов», «Черная львинка биоаккумуляция тяжелых металлов», «*Hermetia illucens* тяжелые металлы», «Черная львинка тяжелые металлы», «black soldier fly heavy metals», «black soldier fly heavy metals bioaccumulation», «*Hermetia illucens* heavy metals», «*Hermetia illucens* heavy metals bioaccumulation». Всего в результате первичного поиска был найден 741 источник.

Критерии включения статей были следующими:

- (1) статья написана в период с 2000 по 2023 гг.;
- (2) типами исследуемых работ являются оригинальные исследовательские и обзорные статьи;
- (3) статья соответствует теме исследования;
- (4) наличие доступа к публикации.

В результате были отобраны 54 источника.

### Отбор источников

В результате первичного поиска был отобран 741 источник. Затем, после ограничения поиска обзорами и оригинальными исследовательскими статьями, их число сократилось до 332. В результате дальнейшего сканирования текстов в основу настоящего обзора были включены 54 источника на английском языке.

### Табуляция и анализ данных

Для извлечения данных авторы сканировали публикации независимо друг от друга, и через обмен мнениями в обсуждении приходили к общему решению спорных вопросов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Факторами, влияющими на потенциал применения личинок в качестве кормовых добавок и связанными с тяжелыми металлами, являются: способность биоаккумуляции тяжелых металлов, содержание металлов в кормовом субстрате, стадия развития Черной львинки, способы переработки перед использованием в качестве кормовых добавок, а также способность животных, употребляющих в пищу Черную львинку, накапливать тяжелые металлы.

## Биоаккумуляция тяжелых металлов личинками Черной львинки

Тяжелые металлы, такие как кадмий, свинец, ртуть и мышьяк, накапливаются в насекомых. Металлом, вызывающим наибольшую озабоченность, является кадмий, из-за его способности накапливаться в Черной львинке, представляющей большой интерес для использования в качестве корма (Giroto & Cossu, 2019; Imathiu, 2020).

Proc, Bulak, Wiącek, & Bieganski (2020) продемонстрировали способность *H. illucens* к биоаккумуляции Cu, Fe, Hg, Mg, Mo, Se и Zn, происходившей на всех стадиях развития насекомых и в куколках, тогда как биоаккумуляция As, Co и Pb не наблюдалась. Эти результаты могут быть полезны в контексте биоремедиации.

Bohm, Hatley, Robinson, & Gutiérrez-Ginés (2022) определили характеристики биоконверсии BSF на различных типах твердых биологических веществ и смесей твердых биологических веществ и проанализировали биоаккумуляцию тяжелых металлов в личинках. Несмотря на первоначальные высокие концентрации в твердых биологических веществах (< 8700 мг/кг), тяжелые металлы в значительной степени распределялись в остатках вместо зрелой BSF, что приводило к низкой биоаккумуляции этих элементов в BSF (< 180 мг/кг). Эти концентрации были даже ниже пределов, установленных международными стандартами для кормов для животных. Таким образом, это исследование показало, что биоконверсия на основе BSF может быть инновационной и устойчивой технологией обращения с отходами и восстановления ресурсов для быстрого сокращения объемов твердых биологических веществ при одновременном преобразовании их в ценную биомассу с низким содержанием тяжелых металлов.

Селен (Se) является важным микроэлементом, который играет важную роль в развитии животных и человека. (Fertier, Montarnal, Truptil, & Bénaben (2020) рассматривается роль селена в окружающей среде, растениях и организмах животных, а также обсуждаются данные о биообогащении селеном с использованием различных источников добавок, от неорганических до органических форм, с особым акцентом на дрожжи, обогащенные селеном (дрожжи Se22). Хотя селеновые дрожжи остаются одним из основных источников органического се-

лена, рассматриваются другие появляющиеся и инновационные источники, такие как обогащенные селеном насекомые и наночастицы селена, и их потенциальное использование в кормлении животных. Обогащенные селеном насекомые обсуждаются как способ обогащения селеном в органической форме рациона скота. Также обсуждаются наночастицы селена, поскольку они представляют собой более биосовместимый и менее токсичный источник неорганического селена для животных организмов по сравнению с селенитом и селенатом. Из научных данных, имеющихся в литературе, можно сделать вывод, что среди неорганических форм селенит натрия по-прежнему является одним из основных вариантов, тогда как Se-дрожжи остаются основной органической формой. Однако другие потенциальные источники, такие как обогащенные селеном насекомые и наночастицы селена, изучаются, поскольку они потенциально могут сочетать высокую биодоступность и снижение выбросов селена в окружающую среду (Ferrari et al., 2023).

Attigbe, Ayim, & Martey (2019) изучили влияние компостирования органических отходов, содержащих тяжелые металлы, в частности ртуть (Hg), с использованием личинок черной львинки. Органические пищевые отходы (вареный рис, сырой батат и овощи), смешанные с куриными фекалиями и опилками, дозировали различными концентрациями ртутной соли 10 мг, 20 мг и 30 мг. Затем в дозированные образцы вносили 100, 200 и 300 личинок на 13-дневный период, в течение которого их изучали. Авторы установили, что скорость удаления ртути из компоста была относительно пропорциональна количеству личинок в образце. Личинки смогли аккумулировать разумное количество ртути из образца. Авторы также отмечают, что уровни ртути в компосте после 13-го дня были ниже пороговых значений Европейского союза (ЕС) в 0.7–10 мг Hg/кг.

Wu et al. (2020) изучили влияние Cu и Cd на распределение накопленных тяжелых металлов в личинках и их фекалиях. При повышенных дозах содержание как Cu, так и Cd, накопленных в телах и фекалиях BSFL, заметно увеличивается. В фекалиях BSFL Cu в основном существует в виде остатков, в то время как Cd преимущественно существует либо в водорастворимом состоянии (в случае низкого исходного содержания), либо в виде остатков (в случае высокого исходного содержания). *In vivo* показано, что Cd легче обогащается (47,1–91,3%),

чем Cu (<30%),.. Предполагается, что Cd транспортируется в личинках с помощью белков теплового шока и проходит через кальциевые каналы независимо от эндоцитоза. BSFL имеют высокое содержание Ca, по сравнению с другими видами кормовых насекомых, что может объяснить значительное поглощение Cd (Somroo et al., 2019).

### Тяжелые металлы из кормового субстрата

Использование кормового субстрата, не содержащего тяжелые металлы (например, куриный корм (Chiam et al., 2021) позволяет избежать рисков, связанных с дальнейшей передачей металлов по пищевой цепи. Однако, биоконверсия промышленных пищевых отходов в источник белка путем переваривания насекомыми является способом повышения ценности отходов, что в свою очередь позволяет достичь экономики замкнутого цикла. Тем не менее, потенциальное обогащение тяжелыми металлами насекомых после переваривания отходов создает ограничение (Hu et al., 2023; Raksasat et al., 2020; Sampathkumar, Yu, & Loo, 2023; Tan et al., 2021).

Воздействие низких концентраций тяжелых металлов, таких как свинец, кадмий, ртуть и мышьяк, вызывает токсические и неблагоприятные последствия для здоровья как у животных, так и у людей. Хотя сообщалось о возможном накоплении тяжелых металлов у съедобных насекомых, имеется ограниченная информация о пищевой безопасности насекомых в этом отношении. Загрязнение тяжелыми металлами можно уменьшить путем контролируемого производства съедобных насекомых (Lange & Nakamura, 2021). Gligorescu et al. (2022) провели оценку использования пищевых отходов в качестве кормового субстрата для личинок черной львинки в долгосрочных и полупромышленных условиях. Различные смеси на основе пищевых продуктов и различная плотность посадки BSFL использовались в течение 20 партий, и были проведены оценки качества и безопасности по основным результатам, а именно по производительности BSFL, примесям муки, профилям питательных веществ личинок и муки и содержанию тяжелых металлов. В целом, содержание тяжелых металлов как в муке BSFL, так и в муке BSFL, полученной в ходе исследования, было намного ниже максимальных пределов ЕС для кормов и органических удобрений. Таким образом, пита-

тельные вещества из бывших пищевых продуктов могут быть успешно и безопасно переработаны при производстве BSFL.

Личинки черной львинки также обладают потенциалом для переработки навоза домашнего скота. В работах (WANG, WU, CAI, GENG, & XU, 2021; Wu et al., 2021) рассмотрена биоаккумуляция Черной львинкой тяжелых металлов при переработке свиного навоза. В телах личинок при прохождении через кишечник свиного навоза сохраняется менее 10% Cu и Zn, (Wu et al., 2021) а также 38–47% Cd, 6–9 % Cr и около 7% As, остальное выходит с фекалиями. Этот факт нужно учитывать при выборе отходов в качестве кормового субстрата.

### Роль стадии развития Черной львинки

Черная львинка имеет 5 стадий развития: яйцо, личинка, предкуколка, куколка и имаго (взрослая особь). В процессе жизни личинка линяет, сбрасывая верхнюю оболочку (экзувий), а переход из куколки в имаго сопровождается отделением пупария, что оказывает влияние на содержание в насекомом тяжелых металлов. Bohm et al. (2022) кормили личинок Черной львинки серией пищевых субстратов с различным содержанием тяжелых металлов: пшеничными отрубями, бытовыми пищевыми отходами, а также пшеничными отрубями с добавлением обезвоженного шлама и осадка сточных вод в смеси с активным илом, извлеченных из очистных сооружений. Авторы установили, что Черная львинка может производить ценную биомассу, богатую белком и жиром, и при этом тяжелые металлы накапливаются не в зрелой мухе, а преимущественно в остатках (экскрементах и экзувии).

Diener et al. (2015) авторы изучали степень накопления тяжелых металлов (Cd, Pb и Zn) на разных этапах жизни Черной львинки. Исследование показывает, что концентрации свинца и цинка в личинках или предкуколках остаются ниже исходных количеств в пище. При этом кадмий накапливается в предкуколках, что потенциально может ограничивать использование предкуколок в производстве кормов для животных. В случае свинца и цинка опасения по поводу использования предкуколок в кормах для животных менее важны (Diener et al., 2015; Raheem et al., 2019).

## Влияние способов переработки

При рассмотрении Черной львинки в качестве кормовой добавки стоит учитывать способы ее переработки. Так, например, Queiroz et al. (2021) продемонстрировали, что минеральный состав муки из BSFL и белкового концентрата значительно отличается: в белковом концентрате, по сравнению с мукой, содержится меньше Mn в 19 раз, Co — в 1.6, Zn — в 3.1, As — в 6.5, Sr — в 18, Cd — в 1.5, Pb — в 1.8 раз; при этом увеличивается содержание Cu в 2.7 раз, Se — в 1.7 и Hg — в 2 раза.

Bessa et al., (2021) исследовали влияние корма (рацион бройлеров, побочный продукт пивоваренного ячменя, зерновые злаки) и способа умерщвления (бланширование и заморозка) личинок Черной львинки на содержание в них тяжелых металлов (Al, Cr, As, Cd, Pb, Fe, Mn, Sn, Zn). При использовании бланширования по сравнению с другим способом умерщвления при кормлении каждым из трех рассмотренных в данной работе кормов наблюдалось меньшее содержание в личинках тяжелых металлов, что можно объяснить вымыванием их водой при бланшировании.

## Накопление тяжелых металлов животными, питающимися Черной львинкой

Личинки черной львинки (*Hermetia illucens*) являются одними из наиболее часто используемых насекомых в кормах для животных (Aguilar-Ascón, Pariona-Velarde, Loayza-Muro, & Albrecht-Ruíz, 2023). При этом известно, что большинство насекомых являются источниками Zn, Cd, Pb и As, которые обладают высокой токсичностью и представляют угрозу для здоровья животных и человека. Следовательно, используемые концентрации должны быть определены для безопасного использования насекомых в качестве кормовых добавок для животных (Malematja et al., 2023). Так, уже изучено влияние кормовой добавки черной львинки на накопление тяжелых металлов в мускусной утке (Gariglio et al., 2021), большеротом окуне (Fischer et al., 2021), канальном соме (Romano et al., 2023), цыпленке-бройлере (Schiavone et al., 2019), свинье (DiGiacomo & Leury, 2019), норвежском лососе (Zlaugotne et al., 2022) и в других лососевых (English et al., 2021; Yanxian Li et al., 2019).

В случае кормления мускусных уток частично обезжиренной мукой из черной львинки (Gariglio et al.,

2021), содержание тяжелых металлов, за исключением Cu, не превышало значения для контрольной группы. При кормлении личинками большеротого окуня (Fischer et al., 2021) наблюдалось увеличение количества общего количества меди, а также ртути в печени рыб, при этом содержание остальных исследованных тяжелых металлов (Fe, Pb) оставалось неизменным относительно контроля.

Также существуют исследования, сосредоточенные на опасностях для здоровья человека, связанных с поеданием насекомых, включая тяжелые металлы (а именно, кадмий и ртуть) (Montevecchi, Licciardello, Masino, Miron, & Antonelli, 2021).

## ВЫВОДЫ

Ряд работ посвящен изучению способности к биоаккумуляции тяжелых металлов Черной львинки. При этом, объектами исследований становятся преимущественно такие элементы, как Cd, Cu, Fe, Hg, Pb, Zn. С точки зрения производства кормов очевидно, что необходимо контролировать содержание этих токсичных тяжелых металлов, но с точки зрения возможности очистки донных отложений и переработки отходов следует также уделять внимание остальным тяжелым металлам.

Говоря о способах уменьшения содержания тяжелых металлов в личинках Черной львинки можно выделить несколько направлений: использование «чистого» кормового субстрата, разбавление отходов «чистым» кормовым субстратом, очистка при дальнейшей переработке биомассы личинок в корм.

Исследования показывают, что целесообразным с точки зрения уменьшения дальнейшей передачи по пищевой цепочке тяжелых металлов является использование черной львинки в качестве кормовой добавки, а не самостоятельного корма.

Для улучшения понимания данной темы необходимо проведение исследований, в которых изучается влияние большего спектра тяжелых металлов, а не только наиболее токсичных. Помимо этого, дальнейшим направлением исследований может стать изучение влияния других токсичных агентов (микотоксины, пестициды) на личинок Черной львинки и определение степени их накопления в пищевой цепочке.



## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Анатолий Анатольевич Мещеряков:** сбор и обработка полученных данных; написание рукописи.

**Вениамин Юрьевич Ситнов:** руководство исследованием, идея и дизайн исследования, написание и редактирование рукописи.

**Дмитрий Сергеевич Рябухин:** сбор и обработка полученных данных.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

- Afazeli, H., Jafari, A., Rafiee, S. & Nosrati, M. (2014). An investigation of biogas production potential from livestock and slaughterhouse wastes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 34, 380–386. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.016>
- Aguilar-Ascón, E., Pariona-Velarde, D., Loayza-Muro, R. & Albrecht-Ruiz, M. (2023). Use of the sludge obtained from the electrocoagulation process of pumping waters of fishmeal factories for feeding *Tenebrio molitor* larvae. *Heliyon*, 9(5). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16200>
- Attigbo, F. K., Ayim, N. Y. K. & Martey, J. (2019). Effectiveness of black soldier fly larvae in composting mercury contaminated organic waste. *Scientific African*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00205>
- Awasthi, S. K., Kumar, M., Sarsaiya, S., Ahluwalia, V., Chen, H., Kaur, G., Sirohi, R., Sindhu, R., Binod, P., Pandey, A., Rathour, R., Kumar, S., Singh, L., Zhang, Z., Taherzadeh, M. J. & Awasthi, M. K. (2022). Multi-criteria research lines on livestock manure biorefinery development towards a circular economy: From the perspective of a life cycle assessment and business models strategies. *Journal of Cleaner Production*, 341, 130862. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.130862>
- Bessa, L. W., Pieterse, E., Marais, J., Dhanani, K. & Hoffman, L. C. (2021). Food safety of consuming black soldier fly (*Hermetia illucens*) Larvae: Microbial, Heavy metal and cross-reactive allergen risks. *Foods*, 10(8), 1934. <https://doi.org/10.3390/foods10081934>
- Biancarosa, I., Liland, N. S., Biemans, D., Araujo, P., Bruckner, C. G., Waagbø, R., Torstensen, B. E., Lock & E.-J., Amlund, H. (2018). Uptake of heavy metals and arsenic in black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae grown on seaweed-enriched media. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(6), 2176–2183. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8702>
- Bohm, K., Hatley, G. A., Robinson, B. H. & Gutiérrez-Ginés, M. J. (2022). Black Soldier Fly-based bioconversion of biosolids creates high-value products with low heavy metal concentrations. *Resources, Conservation and Recycling*, 180. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.106149>
- Cai, M., Hu, R., Zhang, K., Ma, S., Zheng, L., Yu, Z. & Zhang, J. (2018). Resistance of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae to combined heavy metals and potential application in municipal sewage sludge treatment. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(2), 1559–1567. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0541-x>
- Chiam, Z., Lee, J. T. E., Tan, J. K. N., Song, S., Arora, S., Tong, Y. W., & Tan, H. T. W. (2021). Evaluating the potential of okara-derived black soldier fly larval frass as a soil amendment. *Journal of Environmental Management*, 286(January), 112163. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112163>
- Diener, S., Zurbrugg, C. & Tockner, K. (2015). Bioaccumulation of heavy metals in the black soldier fly, *Hermetia illucens* and effects on its life cycle. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(4), 261–270. <https://doi.org/10.3920/JIFF2015.0030>
- DiGiacomo, K. & Leury, B. J. (2019). Review: Insect meal: A future source of protein feed for pigs? *Animal*, 13(12), 3022–3030. <https://doi.org/10.1017/S1751731119001873>
- English, G., Wanger, G. & Colombo, S. M. (2021). A review of advancements in black soldier fly (*Hermetia illucens*) production for dietary inclusion in salmonid feeds. *Journal of Agriculture and Food Research*, 5, 100164. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100164>
- Ferrari, L., Cattaneo, D. M. I. R., Abbate, R., Manoni, M., Ottoboni, M., Luciano, A., Luciano, A., von Holst, C. & Pinotti, L. (2023). Advances in selenium supplementation: From selenium-enriched yeast to potential selenium-enriched insects, and selenium nanoparticles. *Animal Nutrition*, 14, 193–205. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2023.05.002>
- Fischer, H., Romano, N., Renukdas, N., Kumar, V. & Sinha, A. K. (2021). Comparing black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae versus prepupae in the diets of largemouth bass, *Micropterus salmoides*: Effects on their growth, biochemical composition, histopathology, and gene expression. *Aquaculture*, 546, 737323. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737323>
- Gao, Q., Wang, X., Wang, W., Lei, C. & Zhu, F. (2017). Influences of chromium and cadmium on the development of black soldier fly larvae. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(9), 8637–8644. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8550-3>
- Gariglio, M., Dabbou, S., Gai, F., Trocino, A., Xiccato, G., Holodova, M., Gresakova, L., Nery J., Bellezza Oddon, S., Biasato, I., Gasco, L. & Schiavone, A. (2021). Black soldier fly larva in Muscovy duck diets: effects on duck growth, carcass property, and meat quality. *Poultry Science*, 100(9), 101303. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101303>

- Giroto, F. & Cossu, R. (2019). Role of animals in waste management with a focus on invertebrates' biorefinery: An overview. *Environmental Development*, 32(March), 100454. <https://doi.org/10.1016/j.envdev.2019.08.001>
- Gligorescu, A., Macavei, L. I., Larsen, B. F., Markfoged, R., Fischer, C. H., Koch, J. D., Jensen, K., Heckmann, L.H.L., Nørgaard, J.V. & Maistrello, L. (2022). Pilot scale production of *Hermetia illucens* (L.) larvae and frass using former foodstuffs. *Cleaner Engineering and Technology*, 10(August), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.clet.2022.100546>
- Gold, M., Tomberlin, J. K., Diener, S., Zurbrügg, C. & Mathys, A. (2018). Decomposition of biowaste macronutrients, microbes, and chemicals in black soldier fly larval treatment: A review. *Waste Management*, 82, 302–318. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.10.022>
- Görür, G. (2006). Developmental instability in cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) populations exposed to heavy metal accumulated host plants. *Ecological Indicators*, 6(4), 743–748. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2005.09.001>
- Hu, C., Yang, L., Wang, H., Xiao, X., Wang, Z., Gong, X., Liu, X. & Li, W. (2023). Analysis of heavy metals in the conversion of lake sediment and restaurant waste by black soldier fly (*Hermetia illucens*). *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11(March), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1163057>
- Huang, S., Zheng, X., Luo, L., Ni, Y., Yao, L. & Ni, W. (2021). Biostimulants in bioconversion compost of organic waste: A novel booster in sustainable agriculture. *Journal of Cleaner Production*, 319(August), 128704. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128704>
- Imathiu, S. (2020). Benefits and food safety concerns associated with consumption of edible insects. *NFS Journal*, 18(August 2019), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2019.11.002>
- Lagisz, M. & Laskowski, R. (2008). Evidence for between-generation effects in carabids exposed to heavy metals pollution. *Ecotoxicology*, 17(1), 59–66. <https://doi.org/10.1007/s10646-007-0176-7>
- Lange, K. W. & Nakamura, Y. (2021). Edible insects as future food: chances and challenges. *Journal of Future Foods*, 1(1), 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2021.10.001>
- Li, Yan-xia, Xiong, X., Chun-ye, L., Feng-song, Z., Wei, L. & Wei, H. (2010). Cadmium in animal production and its potential hazard on Beijing and Fuxin farmlands. *Journal of Hazardous Materials*, 177(1–3), 475–480. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.12.057>
- Li, Yanxian, Kortner, T. M., Chikwati, E. M., Munang'andu, H. M., Lock, E. J. & Kroghdahl, Å. (2019). Gut health and vaccination response in pre-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal. *Fish and Shellfish Immunology*, 86(November 2018), 1106–1113. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.12.057>
- Liew, C. S., Yunus, N. M., Chidi, B. S., Lam, M. K., Goh, P. S., Mohamad, M., Sin, J.C., Lam, S.M. & Lim, J. W. (2022). A review on recent disposal of hazardous sewage sludge via anaerobic digestion and novel composting. *Journal of Hazardous Materials*, 423(PA), 126995. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126995>
- Liu, T., Awasthi, M. K., Awasthi, S. K., Zhang, Y. & Zhang, Z. (2020). Impact of the addition of black soldier fly larvae on humification and speciation of trace elements during manure composting. *Industrial Crops and Products*, 154(June), 112657. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112657>
- Malematja, E., Manyelo, T. G., Sebola, N. A., Kolobe, S. D. & Mabelebele, M. (2023). The accumulation of heavy metals in feeder insects and their impact on animal production. *The Science of the Total Environment*, 885(December 2022), 163716. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163716>
- Miranda, C. D., Crippen, T. L., Cammack, J. A. & Tomberlin, J. K. (2021). Black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae), and house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae), larvae reduce livestock manure and possibly associated nutrients: An assessment at two scales. *Environmental Pollution*, 282, 116976. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116976>
- Montevecchi, G., Licciardello, F., Masino, F., Miron, L. T. & Antonelli, A. (2021). Fortification of wheat flour with black soldier fly prepupae. Evaluation of technological and nutritional parameters of the intermediate doughs and final baked products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 69(March), 102666. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102666>
- Moral, R., Perez-Murcia, M. D., Perez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J., Paredes, C. & Rufete, B. (2008). Salinity, organic content, micronutrients and heavy metals in pig slurries from South-eastern Spain. *Waste Management*, 28(2), 367–371. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.01.009>
- Moroń, D., Szentgyörgyi, H., Skórka, P., Potts, S. G. & Woyciechowski, M. (2014). Survival, reproduction and population growth of the bee pollinator, *Osmia rufa* (Hymenoptera: Megachilidae), along gradients of heavy metal pollution. *Insect Conservation and Diversity*, 7(2), 113–121. <https://doi.org/10.1111/icad.12040>
- Pleissner, D. & Rumpold, B. A. (2018). Utilization of organic residues using heterotrophic microalgae and insects. *Waste Management*, 72, 227–239. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.020>
- Proc, K., Bulak, P., Wiącek, D. & Bieganski, A. (2020). *Hermetia illucens* exhibits bioaccumulative potential for 15 different elements — Implications for feed and food production. *Science of the Total Environment*, 723. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138125>
- Queiroz, L. S., Regnard, M., Jessen, F., Mohammadifar, M. A., Sloth, J. J., Petersen, H. O., Ajallouiean F., Brouzes C.M.C., Fraihi W., Fallquist H., de Carvalho A.F. & Casanova F. (2021). Physico-chemical and colloidal properties of protein extracted from black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *International Journal of Biological Macromolecules*, 186(June), 714–723. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.081>
- Raheem, D., Raposo, A., Oluwale, O. B., Nieuwland, M., Saraiva, A. & Carrascosa, C. (2019). Entomophagy: Nutritional, ecological, safety and legislation aspects. *Food Research International*, 126, 108672. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108672>
- Raksasat, R. and Lim, J.W. and Kiatkittipong, W. and Kiatkittipong, K. and Ho, Y.C. and Lam, M.K. and Font-Palma, C., Mohd Zaid, H.F. & Cheng, C.K. (2020). A review of organic waste enrichment for inducing palatability of black soldier fly larvae: Wastes to

- valuable resources. *Environmental Pollution*, 267, 115488. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115488>
- Romano, N., Datta, S. N., Pande, G. S. J., Sinha, A. K., Yamamoto, F. Y., Beck, B. H. & Webster, C. D. (2023). Dietary inclusions of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae frass enhanced production of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) juveniles, stevia (*Stevia rebaudiana*), and lavender (*Lavandula angustifolia*) in an aquaponic system. *Aquaculture*, 575(June), 739742. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739742>
- Salam, M., Alam, F., Dezhi, S., Nabi, G., Shahzadi, A., Hassan, S. U., Ali, M., Saeed, M. A., Hassan, J., Ali, N. & Bilal, M. (2021). Exploring the role of Black Soldier Fly Larva technology for sustainable management of municipal solid waste in developing countries. *Environmental Technology and Innovation*, 24, 101934. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101934>
- Sampathkumar, K., Yu, H. & Loo, S. C. J. (2023). Valorisation of industrial food waste into sustainable aquaculture feeds. *Future Foods*, 7(June), 100240. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100240>
- Schiavone, A., Dabbou, S., Petracci, M., Zampiga, M., Sirri, F., Biasato, I., Gai, F. & Gasco, L. (2019). Black soldier fly defatted meal as a dietary protein source for broiler chickens: Effects on carcass traits, breast meat quality and safety. *Animal*, 13(10), 2397–2405. <https://doi.org/10.1017/S1751731119000685>
- Schrögel, P. & Wätjen, W. (2019). Insects for Food and Feed-Safety Aspects Related to Mycotoxins and Metals. *Foods*, 8(8), 288. <https://doi.org/10.3390/foods8080288>
- Somroo, A. A., ur Rehman, K., Zheng, L., Cai, M., Xiao, X., Hu, S., Mathys, A., Gold, M., Yu, Z. & Zhang, J. (2019). Influence of *Lactobacillus buchneri* on soybean curd residue co-conversion by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) for food and feedstock production. *Waste Management*, 86, 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.01.022>
- Song, S., Ee, A. W. L., Tan, J. K. N., Cheong, J. C., Chiam, Z., Arora, S., Lam, W. N. & Tan, H. T. W. (2021). Upcycling food waste using black soldier fly larvae: Effects of further composting on frass quality, fertilising effect and its global warming potential. *Journal of Cleaner Production*, 288, 125664. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125664>
- Tan, J. K. N., Lee, J. T. E., Chiam, Z., Song, S., Arora, S., Tong, Y. W. & Tan, H. T. W. (2021). Applications of food waste-derived black soldier fly larval frass as incorporated compost, side-dress fertilizer and frass-tea drench for soilless cultivation of leafy vegetables in biochar-based growing media. *Waste Management*, 130, 155–166. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.05.025>
- van Huis, A., Oonincx, D. G. A. B., Rojo, S. & Tomberlin, J. K. (2020). Insects as feed: House fly or black soldier fly? *Journal of Insects as Food and Feed*, 6(3), 221–229. <https://doi.org/10.3920/JIFF2020.x003>
- Wang, H., Dong, Y. & Wang, H. (2014). Hazardous metals in animal manure and their changes from 1990 to 2010 in China. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 96(9), 1346–1355. <https://doi.org/10.1080/02772248.2015.1023305>
- Wang, H., Dong, Y., Yang, Y., Toor, G. S. & Zhang, X. (2013). Changes in heavy metal contents in animal feeds and manures in an intensive animal production region of China. *Journal of Environmental Sciences*, 25(12), 2435–2442. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(13\)60473-8](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(13)60473-8)
- WANG, X. bo, WU, N., CAI, R. jie, GENG, W. na & XU, X. yan. (2021). Changes in speciation, mobility and bioavailability of Cd, Cr and As during the transformation process of pig manure by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Journal of Integrative Agriculture*, 20(5), 1157–1166. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63333-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63333-0)
- Wu, N., Wang, X., Xu, X., Cai, R. & Xie, S. (2020). Effects of heavy metals on the bioaccumulation, excretion and gut microbiome of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 192(February), 110323. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110323>
- Wu, N., Wang, X., Yan, Z., Xu, X., Xie, S. & Liang, J. (2021). Transformation of pig manure by passage through the gut of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*): Metal speciation, potential pathogens and metal-related functional profiling. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211(January), 111925. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111925>
- Wynants, E., Frooninckx, L., Crauwels, S., Verreth, C., De Smet, J., Sandrock, C., Wohlfahrt, J., Van Schelt, J., Depraetere, S., Lievens, B., Van Miert, S., Claes, J. & Van Campenhout, L. (2019). Assessing the Microbiota of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) Reared on Organic Waste Streams on Four Different Locations at Laboratory and Large Scale. *Microbial Ecology*, 77(4), 913–930. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1286-x>
- Xu, H., Hong, C., Yao, Y., Liu, L., Wang, W., Zhu, W., Hong, L., Weng, J., Zhou, Y., Zhu, F. (2021). The process of biotransformation can produce insect protein and promote the effective inactivation of heavy metals. *Science of the Total Environment*, 776, 145864. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145864>
- Yuvaraj, A., Thangaraj, R., Karmegam, N., Ravindran, B., Chang, S. W., Awasthi, M. K. & Kannan, S. (2021). Activation of biochar through exoenzymes prompted by earthworms for vermibiochar production: A viable resource recovery option for heavy metal contaminated soils and water. *Chemosphere*, 278, 130458. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130458>
- Zhang, J., Shi, Z., Gao, Z., Wen, Y., Wang, W., Liu, W., Wang, X., & Zhu, F. (2021). Identification of three metallothioneins in the black soldier fly and their functions in Cd accumulation and detoxification. *Environmental Pollution*, 286. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117146>
- Zhu, Y.-G., Johnson, T. A., Su, J.-Q., Qiao, M., Guo, G.-X., Stedtfeld, R. D., Hashsham, S.A. & Tiedje, J. M. (2013). Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(9), 3435–3440. <https://doi.org/10.1073/pnas.1222743110>
- Zlaugotne, B., Pubule, J. & Blumberga, D. (2022). Advantages and disadvantages of using more sustainable ingredients in fish feed. *Heliyon*, 8(9), e10527. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10527>



УДК 664.6:663.05(06)

# Влияние коллагенсодержащих добавок полученных из покровных тканей рыб на качественные характеристики хлеба

<sup>1</sup> Калининградский государственный технический университет,  
г. Калининград, Российская Федерация

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
г. Москва, Российская Федерация

## КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Чернега Ольга Павловна

E-mail: olga.chernega@klgtu.ru

## ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

## ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Воробьев, В.И., Чернега, О.П., Фатыхов, Ю.А., Сафронова, Т.В., & Нижникова, Е.В. (2023). Влияние коллагенсодержащих добавок из покровных тканей рыб на качественные характеристики хлеба. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 175–188. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.413>

ПОСТУПИЛА: 23.01.2023

ПРИНЯТА: 15.12.2023

ОПУБЛИКОВАНА: 30.12.2023

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.



В. И. Воробьев<sup>1</sup>, О. П. Чернега<sup>1</sup>, Ю. А. Фатыхов<sup>1</sup>, Т. В. Сафронова<sup>2</sup>,  
Е. В. Нижникова<sup>1</sup>

## АННОТАЦИЯ

**Введение:** Тенденция к более сбалансированному питанию, способствовала увеличению спроса на хлебобулочные изделия, в рецептурах которых, используются белки, в том числе из гидробионтов. В процессе разделки рыбы, образуется значительное количество недостаточно востребованных покровных тканей, являющиеся богатым источником коллагена (желатина), которые могут быть применены в качестве добавок, позволяющих увеличить биологическую ценность и улучшить качественные показатели готовых хлебобулочных изделий. Предложены новые способы получения добавок из кожи и чешуи рыб, которые способствуют также решению одной из ключевых экономических и экологических проблем рыбной промышленности, безотходной переработки гидробионтов.

**Цель:** Оценить влияние коллагенсодержащих добавок из покровных тканей рыб, полученных предложенными способами, и используемых в составе рецептур хлеба, на его качественные характеристики.

**Материалы и методы:** Исследовались добавки, полученные из кожи и чешуи судака, которые смешивались с яблочным соком прямого отжима (рыбные дисперсии), а также полученные опытные образцы хлеба с добавлением дисперсий и контрольные (без их добавления). Определялся общий химический состав (включая кальций) пищевых добавок из чешуи судака и полученных рыбных дисперсий, а также опытных и контрольных образцов хлеба. Исследовались физико-химические, реологические и органолептические показатели как опытных, так и контрольных образцов хлеба.

**Результаты:** Предложены способы получения хлеба с применением коллагенсодержащих рыбных дисперсий, позволяющие при замене в рецептуре воды на рыбную дисперсию в 1 способе увеличить массовый выход готового изделия на 14,5 %, а во втором на 3 %. Хлеб с рыбной дисперсией имеет меньшую массовую долю углеводов при повышенной массовой доле белка и кальция по отношению к контролю. Внесение рыбных дисперсий не повлияло на запах хлебобулочного изделия. Однако оказало влияние на вкус и цвет как поверхности хлеба, так и его мякиша. Образцы хлеба с рыбной дисперсией обладали лучшими органолептическими свойствами.

**Выводы:** Коллагенсодержащие добавки, полученные из покровных тканей рыб и используемые в составе рецептур хлеба, увеличивают его массовый выход за счёт удержания влаги в готовом изделии, пищевую ценность и улучшают вкус, по сравнению с контролем (без добавок), что позволяет вовлечь в промышленное производство значительные объёмы мало используемого сырья гидробионтов.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

рыбные коллагенсодержащие добавки, рыбная дисперсия, способ получения, коллагенсодержащее волокно, рецептура, хлеб



# Influence of Collagen-Containing Additives Obtained from Integumentary Tissues of Fish on the Quality Characteristics of Bread

<sup>1</sup> Kaliningrad State Technical University,  
Kaliningrad, Russian Federation

<sup>2</sup> Lomonosov Moscow State University,  
Moscow, Russian Federation

## CORRESPONDENCE:

**Olga P. Chernega**

E-mail: [olga.chernega@klgtu.ru](mailto:olga.chernega@klgtu.ru)

## DATA AVAILABILITY:

Data from the current study are available upon request from the corresponding author.

## FOR CITATIONS:

Vorobev, V.I., Chernega, O.P., Fatykhov, Yu.A., Safronova, T.V., & Nizhnikova, E.V. (2023). Impact of collagen-containing additives derived from fish skin tissues on the quality characteristics of bread. *Storage and Processing of Farm Products*, (4), 175–188. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.4.413>

RECEIVED: 23.01.2023

ACCEPTED: 15.12.2023

PUBLISHED: 30.12.2023

## DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.



Viktor I. Vorobev<sup>1</sup>, Olga P. Chernega<sup>1</sup>, Yuri A. Fatykhov<sup>1</sup>,  
Tatiana V. Safronova<sup>2</sup>, Elena V. Nizhnikova<sup>1</sup>

## ABSTRACT

**Background:** The trend towards a more balanced diet has contributed to an increase in demand for baked goods, the recipes of which use proteins, including those from hydrobionts. In the process of cutting fish, a significant amount of insufficiently required integumentary tissue is formed, which is a rich source of collagen (gelatin), which can be used as additives to increase the biological value and improve the quality indicators of finished bakery products. New methods have been proposed for obtaining additives from the skin and scales of fish, which also contribute to solving one of the key economic and environmental problems of the fishing industry, waste-free processing of aquatic organisms.

**Purpose:** To evaluate the influence of collagen-containing additives from fish integumentary tissues obtained by the proposed methods and used in bread recipes on its quality characteristics.

**Materials and Methods:** We studied additives obtained from the skin and scales of pike perch, which were mixed with directly pressed apple juice (fish dispersions), as well as the resulting experimental samples of bread with the addition of dispersions and control ones (without their addition). The general chemical composition (including calcium) of food additives from pike perch scales and the resulting fish dispersions, as well as experimental and control samples of bread, was determined. Physico-chemical, rheological and organoleptic indicators of both experimental and control samples of bread were studied.

**Results:** Methods for producing bread using collagen-containing fish dispersions have been proposed, which allow, by replacing water in the recipe with fish dispersion in the first method, to increase the mass yield of the finished product by 14.5 %, and in the second by 3 %. Bread with fish dispersion has a lower mass fraction of carbohydrates with an increased mass fraction of protein and calcium relative to the control. The addition of fish dispersions did not affect the smell of the bakery product. However, it had an impact on the taste and color of both the surface of the bread and its crumb. Bread samples with fish dispersion had better organoleptic properties.

**Conclusions:** Collagen-containing additives obtained from fish cover tissues and used in bread formulations increase its mass yield due to moisture retention in the finished product, nutritional value and improve the taste, compared to the control (without additives), which allows to involve in industrial production significant amounts of little used raw materials of hydrobionts.

## KEYWORDS

fish collagen-containing additives, fish dispersion, production method, recipe, bread

## ВВЕДЕНИЕ

Низкая стоимость основного сырья (злаковые) и относительная простота изготовления хлеба и хлебобулочных изделий способствовали его массовому производству и доступности продукта для всех социальных слоёв населения во всём мире. Хлеб, приготовленный из пшеничной муки, имеет большой объем, светлый цвет, однородный упругий пористый мягкий мякиш, при значительном количестве углеводов (в основном быстроусвояемых с высоким гликемическим индексом), и низким содержании белка, жира, и минеральных веществ (Prieto-Vázquez del Mercado et al 2022; Foster-Powell 2002). Хлеб может обеспечить 1,2 % белка, 60 % тиамина и ниацина, 40 % кальция и 80 % суточной нормы железа, необходимой взрослому человеку (Qajarbeygi et al 2018; Grafenauer et al 2018). Современная тенденция населения планеты к более здоровому сбалансированному питанию способствует увеличению спроса на хлебобулочные изделия с повышенными питательными свойствами (Sharif et al., 2022; Габдукаева и др., 2017; Aghalari et al., 2022). Значительное распространение имеет введение в рецептуру хлебобулочных изделий, с целью полной или частичной замены пшеницы, различных растительных добавок и их концентратов (бобовые, псевдозерновые, злаки, зародыши семян рожкового дерева, грибы, овощи, лебеда, картофель, ягоды, соки и др.) (Bajka et al., 2021; Lau et al 2021; Заикина и др., 2021; Liu et al., 2017; Prieto-Vázquez del Mercado et al 2022). Введение растительных добавок в рецептуру хлебобулочных изделий (ввиду снижения или отсутствия содержания глютена, отвечающего за структуру) в большинстве случаев сопровождается снижением их физико-химических (уменьшение объёма, пористости, влажности и др.) и органолептических показателей качества (тёмный цвет, непривлекательный внешний вид, вкус, запах и др.) (Delcour et al 2012;). Достаточно широко в качестве белковых добавок животного происхождения при производстве хлеба и кондитерских изделий используются молоко, яйца и их производные, а также мясо и продукты его переработки (Мацейчик и др., 2018). В настоящее время, имеется отчётливая тенденция по использованию пище-

вых насекомых в хлебобулочных изделиях (известно более 2000 съедобных видов в мире, таких как кузнечик, жёлтый мучной червь, черный таракан, сверчки и др.) имеющих распространение и как самостоятельного продукта в странах Юго-восточной Азии (Orkusz 2021; Gravel. 2020; Cappelli et al., 2020). Сдерживающим фактором использования пищевых насекомых является высокая стоимость сырья и психологический барьер (отвращение) жителей многих стран мира к их применению в качестве источника пищи. Одним из источников увеличения биологической ценности хлебобулочных изделий являются гидробионты (рыба и продукты её переработки, водоросли, мидии, креветки, артемия, морская вода и др.) (Monteiro et al., 2018; Vijaykrishnaraj et al., 2015; Zebib et al., 2020).

Известно, что желатин, полученный из рыбьей кожи, применяемый в рецептуре приготовления хлеба в количестве 0,5 или 1 % образует желатино-глютеновые комплексы, способствующие увеличению удельного объёма буханки и размеру ячеек мякиша, увеличению водоудерживающей способности и замедлению подвижности воды (Sang et al., et al., 2020).

Коллагенсодержащие покровные ткани рыб (чешуя и кожа), недостаточно востребованы (частично производство кормов, коллагена и продуктов его гидролиза), являясь весьма значимой экономической и экологической проблемой рыбной промышленности, требующей скорейшего решения их переработки. Учитывая значительные количества покровных тканей рыб, ежегодно образующихся в мире (только рыба чешуя оценивается в 8 млн т), представляет интерес в возможности применения коллагенсодержащего рыбного ресурса в качестве добавок при производстве хлебобулочных изделий (Kodali et al., 2020). Предложены способы переработки покровных тканей рыб, позволяющие получить пищевые добавки используемые при производстве хлебобулочных изделий<sup>1,2</sup>.

Цель исследования: оценить влияние коллагенсодержащих добавок, из покровных тканей рыб, полученных новыми способами и используемых в рецептуре хлеба, на его качественные характеристики.

<sup>1</sup> Воробьев В. И., Чернега О. П., Сафронова Т.В., Нижникова Е. В. (2023) Способ приготовления хлебобулочного изделия. РФ Патент №2798565. Калининград: Калининградский государственный технический университет

<sup>2</sup> Воробьев В. И., Чернега О. П., Фатыхов Ю. А., Нижникова Е. В. (2022). Способ приготовления хлеба с рыбной добавкой. РФ Патент № 2785619. Калининград: Калининградский государственный технический университет.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объекты исследования

Объектами исследования являлись: образцы хлеба, полученные по традиционной технологии и с применением коллагенсодержащих добавок из рыбьей кожи и чешуи судака; опытные образцы хлеба приготовлены с рыбной дисперсией, а контроль с водой.

В работе было использовано следующее сырье: мука пшеничная по ГОСТ 26574–2017 «Мука пшеничная хлебопекарная. Технические условия»<sup>3</sup>; сахар по ГОСТ 33222–2015 «Сахар белый. Технические условия»<sup>4</sup>; дрожжи хлебопекарные сухие по ГОСТ Р 54845–2011 «Дрожжи хлебопекарные сушеные. Технические условия»<sup>5</sup>; молоко коровье по ГОСТ 31450–2013 «Молоко питьевое. Технические условия»<sup>6</sup>; соль по ГОСТ Р 51574–2018 «Соль пищевая. Общие технические условия»<sup>7</sup>.

### Оборудование

Мойку рыбного сырья в капроновой сетке осуществляли в стиральной машине (модель LG F2WN2S6S3E; LG, Вроцлав, Польша). Для очистки и разделения рыбного сырья на кожу и чешую использовали смеситель Moulinex Delico FP203 (500 Вт). Очищенную, рыбью чешую обезвоживали в электросушилке Спектр-Прибор ЭСОФ-2–0,6/220 Ветерок-2 (ООО «Спектр-Прибор», г. Курск, Россия). Измельчение высушенной чешуи производили при помощи измельчителя (чаша 0,8 литра, 36000 об/мин, 3000 Вт, производитель Zhejiang Winki Plastic Co., Ltd., Уи, Китай). Сепарирование измельчённой смеси чешуи осуществляли при помощи вибросита (модель PS-300B, Yonkang WD Industry and Trade Ltd., Юнкан, Китай). Гидролизованную рыбную кожу с порошком чешуи гомогенизировали погружным блендером «Bosch» (750W).

Рисунок 1

Определение свежести опытных и контрольных образцов хлеба на приборе Brookfield CT3 Texture Analyzer



В процессе работы использовали сушильный шкаф SNOL 24/200, хлебопечку Moulinex OW1101, Brookfield CT3 Texture Analyzer, весы лабораторные общего назначения, титровальные установки, анализатор белка по методу Кьельдаля (DK6+UDK 127).

Для изучения изменения текстуры опытных и контрольных образцов хлеба в процессе хранения были проведены испытания на сжатие, на приборе Brookfield CT3 Texture Analyzer, дающее представление о скорости черствения хлеба, имеющего различный рецептурный состав (Рисунок 1).

### Инструменты

Сита 150 и 170 меш, линейка, стеклянная посуда, дистиллированная вода, химические реактивы.

<sup>3</sup> ГОСТ 26574–2017. (2018). Мука пшеничная хлебопекарная. Технические условия. М.: Стандартинформ.

<sup>4</sup> ГОСТ 33222–2015. (2019). Сахар белый. Технические условия. М.: Стандартинформ.

<sup>5</sup> ГОСТ Р 54845–2011. (2013). Дрожжи хлебопекарные сушеные. Технические условия. М.: Стандартинформ.

<sup>6</sup> ГОСТ 31450–2013. (2019). Молоко питьевое. Технические условия. М.: Стандартинформ.

<sup>7</sup> ГОСТ Р 51574–2018. (2018). Соль пищевая. Общие технические условия. М.: Стандартинформ.

## Методы

Получение пищевых добавок из рыбьей кожи и чешуи судака и их дисперсий, а также изготовление образцов хлеба, осуществляли в лабораториях кафедры технологии продуктов питания и органической химии ФГБОУ ВО «КГТУ» (г. Калининград).

Определение общего химического состава (включая кальций), реологических и органолептических показателей контрольных и опытных образцов хлеба осуществляли в лабораториях кафедры технологии продуктов питания и органической химии ФГБОУ ВО «КГТУ» (г. Калининград) а также сертифицированной испытательной лаборатории ООО «Калининградский испытательный центр».

Общий химический состав (включая кальций) определяли согласно следующей нормативной документации. Массовую долю влаги по ГОСТ Р 54607.4–2015 (п.7.1)<sup>8</sup>, жира по ГОСТ Р 54607.5–2015 (п. 7.1)<sup>9</sup>, белка по ГОСТ 54607.7–2016<sup>10</sup>, кальция по ГОСТ Р 55573–2013 (п.4)<sup>11</sup>, золы по ГОСТ 54607.10–2017<sup>12</sup>, массовую долю углеводов согласно МУ № 4237–86 от 29.12.86 г. (расчетным методом)<sup>13</sup>.

Влажность мякиша готовых хлебобулочных изделий определяли по ГОСТ 21094–75 «Хлеб и хлебобулочные изделия. Метод определения влажности»<sup>14</sup>,

пористость мякиша по ГОСТ 5669–96 «Хлебобулочные изделия. Метод определения пористости»<sup>15</sup>, формоустойчивость по ГОСТ 27669–88 «Мука пшеничная хлебопекарная. Метод пробной лабораторной выпечки хлеба»<sup>16</sup>, кислотность по ГОСТ 5670–96 «Хлебобулочные изделия. Методы определения кислотности»<sup>17</sup>. Органолептические показатели хлеба на соответствие ГОСТ 31805–2018 «Изделия хлебопекарные из пшеничной хлебопекарной муки. Общие технические условия»<sup>18</sup> определяли по ГОСТ 5667–65 «Хлеб и хлебобулочные изделия. Правила приемки, методы отбора образцов, методы определения органолептических показателей и массы изделий»<sup>19</sup>.

## Процедура исследования

Исследования проводили в течение 5 дней хранения при температуре 20±2°C упакованных в полиэтиленовую упаковку опытных и контрольных образцов хлеба. Один ломтик хлеба толщиной 25 мм помещали под цилиндрический зонд диаметром 38,1 мм при скорости испытания 2 мм/с. Зонд погружали в мякиш хлеба на 10 мм. Расстояние, пройденное под нагрузкой, являлось сжимаемостью, которая характеризовало упругость хлеба. Пиковую нагрузку использовали в качестве показателя свежести. Нагрузку сжатия регистрировали в Ньюто-

<sup>8</sup> ГОСТ Р 54607.4–2015. (2019). Услуги общественного питания. Методы лабораторного контроля продукции общественного питания. Часть 4. Методы определения влаги и сухих веществ. М.: Стандартинформ.

<sup>9</sup> ГОСТ Р 54607.5–2015. (2020). Услуги общественного питания. Методы лабораторного контроля продукции общественного питания. Часть 5. Методы определения жира. М.: Стандартинформ.

<sup>10</sup> ГОСТ 54607.7–2016. (2019). Услуги общественного питания. Методы лабораторного контроля продукции общественного питания. Часть 7. Определение белка методом Кьельдаля. М.: Стандартинформ.

<sup>11</sup> ГОСТ Р 55573–2013. (2020). Мясо и мясные продукты. Определение кальция атомно-абсорбционным и титриметрическим методами. М.: Стандартинформ.

<sup>12</sup> ГОСТ 54607.10–2017. (2019). Услуги общественного питания. Методы лабораторного контроля продукции общественного питания. Часть 10. Определение массовой доли общей золы. М.: Стандартинформ.

<sup>13</sup> МУ № 4237–86. (1986). Методические указания по гигиеническому контролю за питанием в организованных коллективах. М.: Минздрав СССР.

<sup>14</sup> ГОСТ 21094–75. (2016). Хлеб и хлебобулочные изделия. Метод определения влажности. М.: Стандартинформ.

<sup>15</sup> ГОСТ 5669–96 Хлебобулочные изделия. Метод определения пористости. Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации.

<sup>16</sup> ГОСТ 27669–88. (2007). Мука пшеничная хлебопекарная. Метод пробной лабораторной выпечки хлеба. М.: Стандартинформ.

<sup>17</sup> ГОСТ 5670–96. (2006). Хлебобулочные изделия. Методы определения кислотности. Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации

<sup>18</sup> ГОСТ 31805–2018. (2019). Изделия хлебопекарные из пшеничной хлебопекарной муки. Общие технические условия. М.: Стандартинформ.

<sup>19</sup> ГОСТ 5667–65. (2016). Хлеб и хлебобулочные изделия. Правила приемки, методы отбора образцов, методы определения органолептических показателей и массы изделий. М.: Стандартинформ.



нах. Всего испытывали по три образца для каждой буханки на всех этапах хранения.

При получении опытных и контрольных образцов хлеба, предварительно были наработаны опытные партии коллагенсодержащих добавок из чешуи судака согласно ранее разработанного способа, заключающегося в очистке и мойки сырья с последующей его сушкой, измельчением, сепарированием и получением фракций в виде коллагенсодержащего волокна и порошка с размером частиц 0,1 мм и менее (Воробьев и др., 2021; Воробьев и др., 2022).

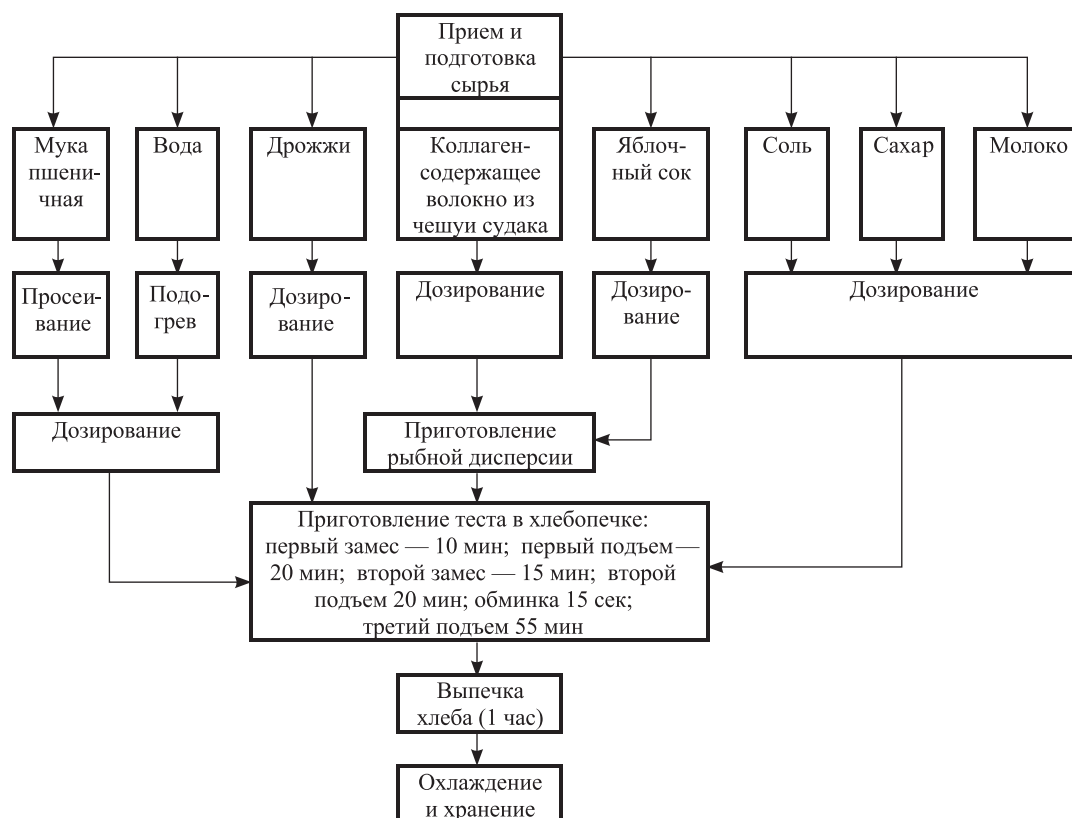
К полученному коллагенсодержащему волокну добавляли яблочный сок в массовом соотношении 1:10, выдерживали 30 минут при комнатной температуре и гомогенизировали до однородной консистенции (способ 1). Согласно другому способу пищевые добавки получали из кожи с чешуёй, где очищенную и промытую водой рыбью кожу с чешуей (судак) обрабатывали в смесителе (Moulinex Delico FP203 (500 Вт)) с добавлением пищевой соли NaCl и льда до отделения чешуи от кожи, полученную смесь промывали и фракционировали с получением отдельно

кожи и чешуи. Рыбью чешую обрабатывали аналогично ранее разработанного способа, с получением порошка чешуи. Рыбью кожу выдерживали в водном растворе пищевой соли NaCl и соды  $\text{NaHCO}_3$ , взятых в массовом соотношении сырье/вода/соль/сода соответственно, как 100:400:5:1 в течение 40 мин., далее отделяли жидкую часть и промывали водой. Очищенную рыбью кожу смешивали с яблочным соком в массовом соотношении 1:12 и выдерживали в течение 96 часов при температуре 40С. Далее полученный порошок рыбьей чешуи (размер частиц не более 0,088 мм), смешивали с гидролизованной рыбьей кожей в массовом соотношении 1:10, и гомогенизировали погружным блендером («Bosch» (750W).), получая однородную рыбную дисперсию без запаха рыбы (способ 2).

Изготовление опытных и контрольных образцов хлеба с добавлением рыбных дисперсий (способ 1 и 2) осуществляли в хлебопечке (Moulinex. модель: OW1101, мощность 600W). Общее время выпекания составляет 3 часа. Выработка контрольных и опытных образцов хлеба производилась согласно следующей схеме (Рисунок 2).

**Рисунок 2**

Технологическая схема производства хлеба с использованием рыбной дисперсии и без нее.



## Анализ данных

Применяли статистический метод обработки экспериментальных данных, в ходе которого определяли среднее значение искомой величины из 5-и кратной повторности, среднеквадратическое отклонение и доверительный интервал при помощи программного пакета Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Общий химический состав (включая кальций) полученных пищевых добавок из чешуи судака и рыбных дисперсии, согласно предложенным способам 1 и 2 представлен в Таблице 1.

**Таблица 1**

Общий химический состав (включая кальций) пищевых добавок из чешуи судака и полученных рыбных дисперсии, согласно предложенным способам 1 и 2

Пищевые добавки (из чешуи судака) и рыбные дисперсии, полученные, согласно способов 1 и 2	Общий химический состав, %					
	Влага	Белок	Жир	Углеводы	Общая зола	Кальций
Коллагенсодержащее волокно с размером частиц 2,5 мм и более	9,2	64,7	3,7	—	22,4	6,6
Порошок (чешуя с размером частиц менее 0,088 мм)	6,7	25,7	2,3	—	63,8	20,5
Способ 1. Рыбная дисперсия (смесь коллагенсодержащего волокна в яблочном соке взятых в массовом соотношении 1:10)	80,58	5,92	0,33	10,74	2,44	0,50
Способ 2. Рыбная дисперсия (смесь гидролизованной в яблочном соке кожи судака в массовом соотношении 1:12, с добавлением порошка из чешуи в массовом соотношении 10:1).	78,60	4,10	0,20	9,90	6,20	1,90

**Таблица 2**

Рецептуры опытных и контрольных образцов хлеба

Ингредиенты	Масса, г			
	Способ 1		Способ 2	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Мука пшеничная	600	600	600	600
Молоко коровье жирностью 2,5 %	260	260	260	260
Дрожжи сухие	5	5	5	5
Сахар белый	35	35	35	35
Соль (NaCl)	7	7	10	—
Вода	100	—	100	—
Рыбная дисперсия	—	100	—	100
Минеральная добавка (рыбья чешуя)	—	—	—	10
Итого:	1007	1007	1010	1010
Масса готового хлеба, г	762	873	750	773
Массовая доля влаги, %	40,7	46,4	37,1	42,2

Как видно из Таблицы 1 массовая доля сухих веществ в рыбных дисперсиях составляет от 19,42 до 21,40 %. При этом массовая доля белка от общего содержания сухих веществ составляет для дисперсий от 19,16 до 30,48 %. Повышенная массовая доля кальция в рыбной дисперсии (способ 2) обусловлена добавлением рыбного порошка (состоит преимущественно из гидроксипатита кальция).

С целью увеличения биологической ценности и улучшения качественных показателей готовой продукции в традиционную рецептуру хлеба была добавлена рыбная дисперсия.

Рецептуры и общая масса полученных опытных и контрольных образцов хлеба представлена в Таблице 2.

**Таблица 3**

Общий химический состав (на абсолютно сухое вещество) в %, включая кальций, опытных и контрольных образцов хлеба

Показатель	Содержание в 100 г изделия			
	Способ 1		Способ 2	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Белки, г	13,66	14,46	13,52	15,58
Жиры, г	0,67	0,72	0,95	0,96
Углеводы, г	83,91	82,61	83,36	81,31
Зола	1,76	2,21	2,16	1,96
Са	0,261	0,521	0,267	0,618
Энергетическая ценность, ккал	396,31	394,76	396,07	396,2

Как видно из Таблицы 2, основным отличием опытной рецептуры от контроля являлась замена воды в количестве 100 г (контроль) на рыбную дисперсию в аналогичном количестве (способ 1), а также дополнительно соли (NaCl) в количестве 10 г (кон-

троль) на аналогичное количество минеральной добавки (опыт) полученной из рыбьей чешуи (способ 2). Хлеб с рыбной дисперсией имеет большую массу и массовую долю влаги, чем хлеб, полученный по контрольной рецептуре. При замене в рецептуре воды на рыбную дисперсию в первом способе массовый выход готового изделия увеличился на 14,5 %, а во втором на 3 %.

Общий химический состав (включая кальций) полученных образцов хлеба представлен в Таблице 3.

Согласно данным Таблицы 3, хлеб с рыбной дисперсией имеет меньшую массовую долю углеводов при повышенной массовой доле белка и кальция по отношению к контролю.

Влияние коллагенсодержащих добавок из покровных тканей рыб на физико-химические показатели контрольных и опытных образцов хлеба представлены в Таблице 4.

Согласно данным Таблицы 4, показатель формоустойчивости и влажности образцов, полученных

**Таблица 4**

Физико-химические показатели контрольных и опытных образцов хлеба

Показатель	Образцы хлеба											
	Контроль						Опыт					
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	Результат измерений	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	Результат измерений
<i>Способ 1</i>												
Формоустойчивость хлеба	0,82	0,80	0,85	0,82	0,84	$0,83 \pm 0,04$ $\alpha = 0,98$	0,88	0,91	0,88	0,88	0,90	$0,88 \pm 0,22$ $\alpha = 0,98$
Пористость, %	70,0	74,0	77,0	75,0	77,0	$74,6 \pm 4,8$ $\alpha = 0,98$	75,0	74,0	72,0	75,0	70,0	$73,2 \pm 3,7$ $\alpha = 0,98$
Влажность, %	40,7	41,0	39,5	40,2	40,1	$40,3 \pm 0,9$ $\alpha = 0,98$	46,4	46,0	46,8	46,5	45,8	$46,3 \pm 0,4$ $\alpha = 0,98$
Кислотность, (град)	2,70	2,78	2,70	2,72	2,70	$2,72 \pm 0,07$ $\alpha = 0,98$	2,92	2,89	2,95	2,93	2,82	$2,90 \pm 0,08$ $\alpha = 0,98$
<i>Способ 2</i>												
Формоустойчивость хлеба	1,36	1,33	1,28	1,36	1,36	$1,33 \pm 0,07$ $\alpha = 0,98$	1,05	1,12	1,16	1,05	1,13	$1,10 \pm 0,07$ $\alpha = 0,98$
Пористость, %	73,0	74,5	76,1	74,0	73,5	$73,8 \pm 1,3$ $\alpha = 0,98$	80,0	82,5	79,8	80,0	80,0	$79,9 \pm 0,2$ $\alpha = 0,98$
Влажность, %	37,1	36,9	36,4	37,2	37,1	$36,9 \pm 0,4$ $\alpha = 0,98$	42,2	41,9	42,0	42,2	41,8	$42,0 \pm 0,3$ $\alpha = 0,98$
Кислотность, (град)	2,63	2,55	2,50	2,69	2,63	$2,60 \pm 0,1$ $\alpha = 0,98$	2,70	2,65	2,67	2,70	2,63	$2,70 \pm 0,07$ $\alpha = 0,98$

первым способом ниже, чем во втором, как в контроле, так и в опыте, при этом формоустойчивость контрольного образца (0,83) первого способа ниже, чем опытного (0,88). Показатель формоустойчивости второго способа в контроле (1,33) выше, чем в опытном образце (1,10). Пористость контрольного образца (74,6%) первого способа была несколько выше, чем у опытного образца (73,2%). Пористость контрольного образца второго способа (73,8) была ниже, чем у опытного образца (79,9). Данные значения влажности соответствовали ГОСТ 31805–2018 «Изделия хлебобулочные из пшеничной муки. Общие технические условия» в допустимых пределах — 19,0–52,0%. Кислотность у полученных образцов также была не выше нормы — 3,5 град.

Внешний вид выпеченных контрольных и опытных образцов хлеба представлены на Рисунках 3 и 4.

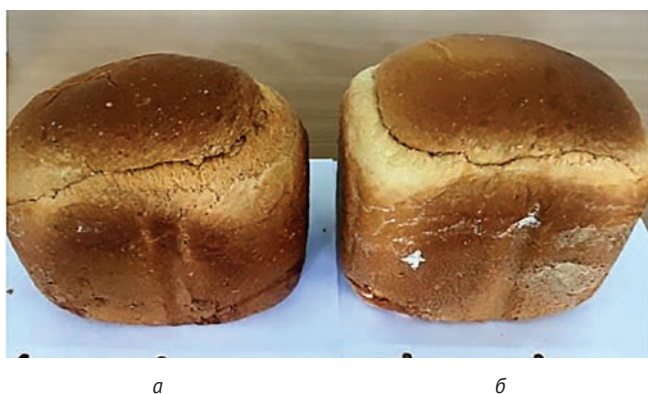
Оценку комплексных органолептических показателей контрольных и опытных образцов готовых изделий проводили по 5 балльной шкале. При органолептической оценке контрольных и опытных образцов обращали внимание на их внешний вид (форма, состояние поверхности, цвет), состояние мякиша (пропеченность, промес, цвет, пористость).

Контрольные и опытные образцы хлеба в разрезе представлены на Рисунке 5.

Органолептические показатели опытных и контрольных образцов хлеба соответствовали ГОСТ 31805–2018 «Изделия хлебобулочные из пшеничной хлебопекарной муки. Общие технические условия».

Внесение рыбных дисперсий не повлияло на запахи хлебобулочного изделия. Однако оказало влия-

**Рисунок 3**  
Образцы хлеба



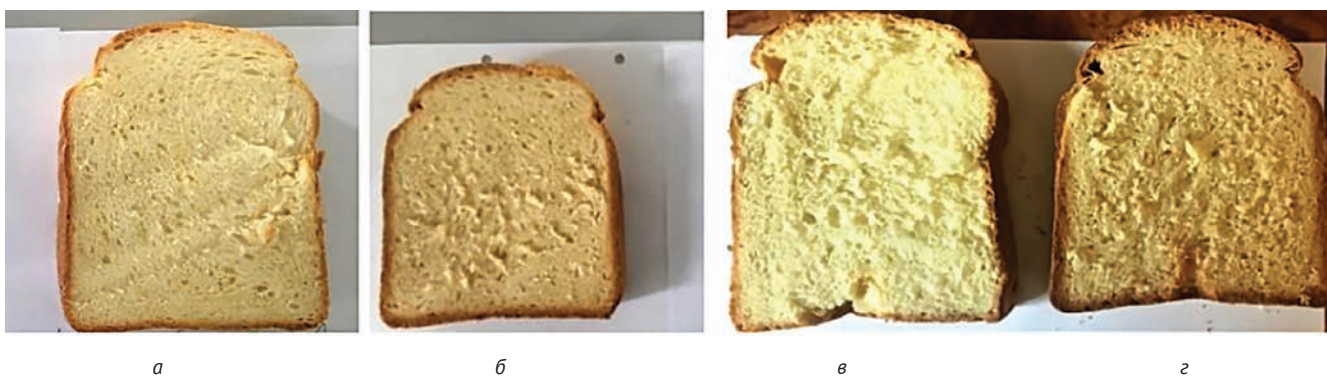
Примечание: а — опытный образец, б — контроль (способ 1).

**Рисунок 4**  
Образцы хлеба



Примечание: а — контроль, б — опытный образец (способ 2)

**Рисунок 5**  
Вид хлеба на разрезе

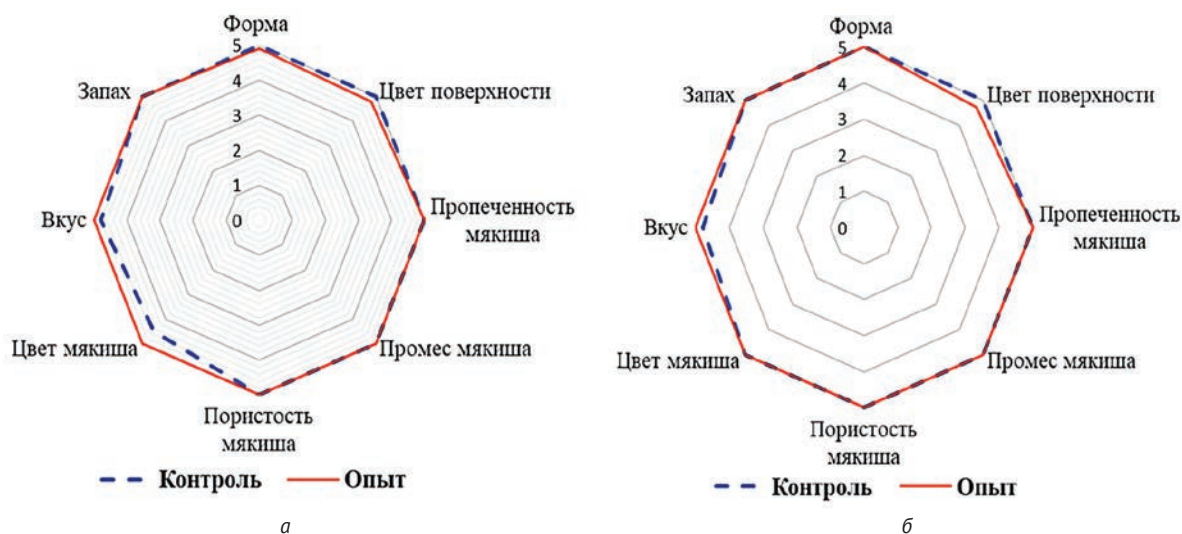


Примечание: а — контроль, б — опытный образец (способ 1), в — опытный образец, г — контроль (способ 2).



**Рисунок 6**

Органолептический профиль опытных и контрольных образцов хлеба



Примечание. а – 1 способ, б – 2 способ.

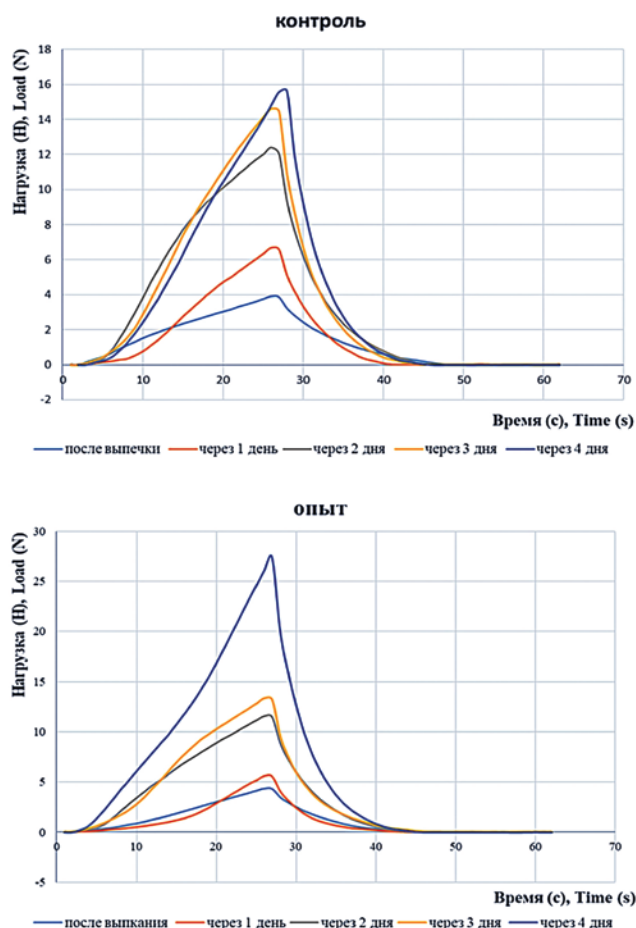
яние на цвет поверхности хлеба и цвет его мякиша. У опытных образцов в сравнении с контролем была более темная поверхность и более яркий цвет мякиша. Вкус более насыщенный сладковатый. Образцы хлеба с рыбной дисперсией обладали лучшими органолептическими свойствами. Известно, что рыба кожа содержит в своем составе, жирные кислоты омега-3, витамин D, E, A, B<sub>12</sub>, йод, селен и таурин, а чешуя, макро- и микроэлементы такие как Ca, P, K, Mg, Na, S и др. (в нашем исследовании не определялись), что также способствует улучшению пищевой ценности опытных образцов хлеба (Sahena et al., 2010). Органолептический профиль опытных и контрольных образцов хлеба представлен на Рисунке 6.

Средние значения пиковой нагрузки на опытные образцы ломтиков хлеба, определенные при помощи прибора Brookfield CT3 Texture Analyzer, дающие представление о процессе черствения хлеба с применением рыбных дисперсий по первому и второму способам с представлены на Рисунках 7 и 8.

Как видно из Рисунков 7 и 8, результаты за период черствения показали разницу между образцами в растяжимости мякиша и площади работы до пиковой деформации. Значения пиковой нагрузки в течение 4-х дней хранения были ниже у опытных образцов, на пятый у контрольных. Пиковые значения нагрузки на хлебный мякиш продемонстриро-

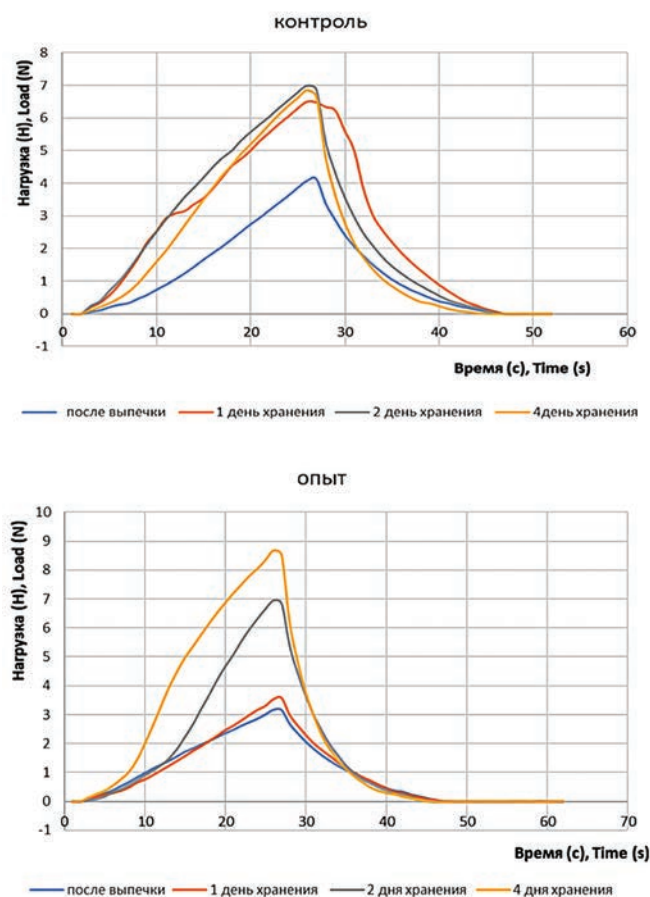
**Рисунок 7**

Динамика старения (черствения) опытных и контрольных образцов хлеба (способ 1)



**Рисунок 8**

Динамика старения (черствения) опытных и контрольных образцов хлеба (способ 2)



вали одинаковую динамику старения всех образцов — увеличение по мере хранения.

Чешуя и кожа рыб считаются рыбными отходами, подвергающиеся быстрой порче, которые в основном используются как сырье при производстве кормовой рыбной муки. Количество исследований, касающихся их переработки на пищевые цели незначительно и в основном направлены на получение из них продуктов (коллаген, желатин, пептиды) способом гидролиза, являющимся длительным и дорогостоящим процессом, ограничивающим их использование в промышленном масштабе.

Применение простых физических способов переработки покровных тканей рыб без использования процесса гидролиза (чешуя), а также получение гидролата из кожи с применением в качестве реакцион-

ной среды кислотосодержащих натуральных фруктовых соков, позволяет значительно сократить продолжительность обработки сырья и снизить стоимость получаемых пищевых добавок.

Предложенный авторами вариант способов получения хлеба с использованием рыбных дисперсий, показывает, что применение коллагенсодержащего сырья позволяет получить продукт с повышенной биологической ценностью и улучшенными органолептическими свойствами.

Необходимо отметить, что при исследовании физико-химических показателей исследуемых образцов хлеба для достоверного определения объема опытных образцов в обоих способах необходимо большее количество проведенных экспериментов, так как отклонение объема опытных образцов от контроля в проведенных исследованиях, наблюдалось как в сторону уменьшения, так и увеличения (что требует проведения дополнительных исследований). В целом можно сказать, что изменение объема опытных образцов, по сравнению с контролем согласно проведенных исследований незначительно.

Внесение рыбных дисперсий в количестве 9,9% от общей массы сырья не оказывает значительное влияние на физико-химические показатели качества хлеба полученного двумя способами, за исключением влажности, которая была выше в опытных образцах (46,3% и 42,0%), чем соответственно в контроле (40,3% и 36,9%). Это обусловлено способностью коллагенового волокна удерживать влагу, что приводит к увеличению массового выхода готового изделия.

## ВЫВОДЫ

Проведенные исследования подтвердили гипотезу о возможности вовлечении коллагенсодержащих покровных тканей рыб в процесс производства пищевых добавок используемых при производстве хлебобулочных изделий.

Замена в рецептуре хлеба воды на рыбные дисперсии, полученные различными способами из покровных тканей гидробионтов, состоящие из смеси коллагенсодержащих добавок из рыбьей кожи и чешуи с яблочным соком, способствует повышению его пищевой ценности за счет увеличения содержа-

ния белка (в т.ч. коллагена) и кальция, при уменьшении углеводов (снижение гликемического индекса) и увеличению массового выхода и массовой доли влаги в готовом продукте, а также улучшению вкуса, при сохранении органолептических свойств в процессе хранения (пористость и упругость мякиша и др.) аналогичных контролю.

## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Воробьев Виктор Иванович:** концептуализация; методология, ресурсы, создание рукописи и ее редактирование.

**Чернега Ольга Павловна:** проведение исследований, создание рукописи и ее редактирование.

**Фатыхов Юрий Адгамович:** концептуализация, руководство исследованием, получение финансирования.

**Сафронова Татьяна Викторовна:** верификация данных, создание рукописи и ее редактирование

**Нижникова Елена Владимировна:** анализ, разработка и получение исследуемого материала, проведение исследований.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Воробьев, В. И., & Нижникова, Е. В. (2021). Получение фракций коллагена и гидроксиапатита из рыбьей чешуи. *Известия Калининградского государственного технического университета*, (62), 80–91. <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2021-62-80-91>
- Vorobiev, V. I., & Nizhnikova, E. V. (2021). Extraction of collagen and hydroxyapatite fractions from fish scales. *News of the Kaliningrad State Technical University*, (62), 80–91. (In Russ.) <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2021-62-80-91>
- Габдукаева, Л. З., & Сорокина, Е. С. (2017). Характеристика современного рынка хлебобулочных изделий для функционального питания. *Вестник Казанского технологического университета*, 20(1), 151–154.
- Gabdukaeva, L. Z., & Sorokina, E. S. (2017). Characteristics of the modern market of bakery products for functional nutrition. *Bulletin of Kazan Technological University*, 20(1), 151–154. (In Russ.)
- Заикина, М. А., Ковалева, А. Е., Пьяникова, Э. А., & Рязанцева, А. С. (2021). Сравнительный анализ влияния пищевых добавок на технологию производства и качественные показатели хлеба пшеничного. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 83(2), 79–86. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2021-2-79-86>
- Zaikina, M. A., Kovaleva, A. E., Pyanikova, E. A., & Ryazantseva, A. S. (2021). Comparative analysis of the influence of food additives on the production technology and quality indicators of wheat bread. *Bulletin of Voronezh State University of Engineering Technologies*, 83(2), 79–86. (In Russ.) <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2021-2-79-86>
- Ключко, Н. Ю., & Позднякова, Д. А. (2022). Исследование по совершенствованию технологии хлебобулочного изделия, обогащенного рыбной белково-минеральной добавкой. *Известия Калининградского государственного технического университета*, (66), 103–111. <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2022-66-103-111>
- Klyuchko, N. Yu., & Pozdnyakova, D. A. (2022). Research on the improvement of bakery product technology enriched with fish protein-mineral additive. *News of the Kaliningrad State Technical University*, (66), 103–111. (In Russ.) <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2022-66-103-111>
- Мацейчик, И. В., Корпачева, С. М., Ткач, А. Н., & Суворова, Е. А. (2018). Использование комплексных добавок из природного сырья при разработке рецептур хлебобулочных изделий. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, (8), 158–165. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-158-165>
- Matseichik, I. V., Korpacheva, S. M., Tkach, A. N., & Suvorova, E. A. (2018). The use of complex additives from natural raw materials in the development of bakery product recipes. *University News. Applied Chemistry and Biotechnology*, (8), 158–165. (In Russ.) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-158-165>
- Aghalari, Z., Dahms, H. U., & Sillanpää, M. (2022). Evaluation of nutrients in bread: A systematic review. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 41(1), Article 50. <https://doi.org/10.1186/s41043-022-00329-3>
- Bajka, B. H., Pinto, A. M., Ahn-Jarvis, J., Ryden, P., Perez-Moral, N., van der Schoot, A., Stoccho, C., Bland, C., Berry, S. E., Ellis, P. R., & Edwards, C. H. (2021). The impact of replacing wheat flour with cellular legume powder on starch bioaccessibility, glycaemic response and bread roll quality: A double-blind randomised controlled trial in healthy participants. *Food hydrocolloids*, 114, Article 106565. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106565>
- Cappelli, A., Oliva, N., Bonaccorsi, G., Lorini, C., & Cini, E. (2020). Assessment of the rheological properties and bread characteristics obtained by innovative protein sources (*Cicer arietinum*, *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor*): Novel food or potential improvers for wheat flour. *LWT — Food Science and Technology*, 118, Article 108867. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108867>
- Delcour, J. A., Joye, I. J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K., & Lagrain, B. (2012). Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products.



- Annual Review of Food Science and Technology*, 3, 469–492. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101303>
- Foster-Powell, K., Holt, S. H. A., & Brand-Miller, J. C. (2002). International table of glycemic index and glycemic load. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 5–56. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.1.5>
- Ghaffari, S., Hosseini, S. V., Farhangi, M., & Boreiri, M. (2021). The effect of different levels of protein concentrate silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) to the profiles mineral production test breads. *Journal of Food Science and Technology*, 18(111), 117–129. <https://doi.org/10.52547/fsct.18.111.117>
- Grafenauer, S., & Curtain, F. (2018). An audit of Australian bread with a focus on loaf breads and whole grain. *Nutrients*, 10(8), Article 1106. <https://doi.org/10.3390/nu10081106>
- Gravel, A., & Doyen, A. (2020). The use of edible insect proteins in food: Challenges and issues related to their functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59, Article 102272. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102272>
- Kodali, D., Hembrick-Holloman, V., Gunturu, D. R., Samuel, T., Jeelani, S., & Rangari, V. K. (2022). Influence of Fish Scale-Based Hydroxyapatite on Forcespun Polycaprolactone Fiber Scaffolds. *ACS omega*, 7(10), 8323–8335. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05593>
- Lau, K. Q., Sabran, M. R., & Shafie, S. R. (2021). Utilization of vegetable and fruit by-products as functional ingredient and food. *Frontiers in Nutrition*, 8, Article 661693. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.661693>
- Liu, X., Mu, T., Sun, H., Zhang, M., Chen, J., & Fauconnier, M. L. (2017). Comparative study of the nutritional quality of potato–wheat steamed and baked breads made with four potato flour cultivars. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68(2), 167–178. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1226272>
- Monteiro, M. L. G., Mársico, E. T., Soares Junior, M. S., Deliza, R., de Oliveira, D. C., & Conte-Junior, C. A. (2018). Tilapia-waste flour as a natural nutritional replacer for bread: A consumer perspective. *PloS one*, 13(5), Article e0196665. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196665.t002>
- Orkusz, A. (2021). Edible insects versus meat — Nutritional comparison: Knowledge of their composition is the key to good health. *Nutrients*, 13(4), Article 1207. <https://doi.org/10.3390/nu13041207>
- Prieto-Vázquez del Mercado, P., Mojica, L., & Morales-Hernández, N. (2022). Protein ingredients in bread: Technological, textural and health implications. *Foods*, 11(16), Article 2399. <https://doi.org/10.3390/foods11162399>
- Qajarbeygi, P., Kazeminia, M., & Mahmoudi, R. (2018). Determine the quality of bread samples used in Qazvin, Iran. *Journal of Chemical Health Risks*, 8(1), Article 1. <https://doi.org/10.22034/jchr.2018.544195>
- Sang, S., Ou, C., Fu, Y., Su, X., Jin, Y., & Xu, X. (2022). Complexation of fish skin gelatin with glutentin and its effect on the properties of wheat dough and bread. *Food Chemistry*, 14, Article 100319. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100319>
- Sharif, M. K., Saleem, M., Sharif, H. R., & Saleem, R. (2022). Enrichment and fortification of traditional foods with plant protein isolates. In A. Manickavasagan, L. T. Lim, A. Ali (Eds.). *Plant protein foods* (pp. 131–169). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-91206-2\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-91206-2_5)
- Vijaykrishnaraj, M., Bharath Kumar, S., & Prabhasankar, P. (2015). Green mussel (*Perna canaliculus*) as a marine ingredient to enrich gluten free pasta: Product quality, microstructure and biofunctional evaluation. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 9, 76–85. <https://doi.org/10.1007/s11694-014-9212-5>
- Zebib, H., Teame, T., Aregawi, T., & Meresa, T. (2020). Nutritional and sensory acceptability of wheat bread from fish flour. *Cogent Food & Agriculture*, 6(1), Article 1714831. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1714831>
- Aghalari, Z., Dahms, H. U., & Sillanpää, M. (2022). Evaluation of nutrients in bread: A systematic review. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 41(1), Article 50. <https://doi.org/10.1186/s41043-022-00329-3>
- Bajka, B. H., Pinto, A. M., Ahn-Jarvis, J., Ryden, P., Perez-Moral, N., van der Schoot, A., Stoccho, C., Bland, C., Berry, S. E., Ellis, P. R., & Edwards, C. H. (2021). The impact of replacing wheat flour with cellular legume powder on starch bioaccessibility, glycaemic response and bread roll quality: A double-blind randomised controlled trial in healthy participants. *Food hydrocolloids*, 114, Article 106565. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106565>
- Cappelli, A., Oliva, N., Bonaccorsi, G., Lorini, C., & Cini, E. (2020). Assessment of the rheological properties and bread characteristics obtained by innovative protein sources (*Cicer arietinum*, *Acheta domesticus*, *Tenebrio molitor*): Novel food or potential improvers for wheat flour. *LWT — Food Science and Technology*, 118, Article 108867. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108867>
- Delcour, J. A., Joye, I. J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K., & Lagrain, B. (2012). Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3, 469–492. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101303>
- Foster-Powell, K., Holt, S. H. A., & Brand-Miller, J. C. (2002). International table of glycemic index and glycemic load. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 5–56. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.1.5>
- Ghaffari, S., Hosseini, S. V., Farhangi, M., & Boreiri, M. (2021). The effect of different levels of protein concentrate silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) to the profiles mineral production test breads. *Journal of Food Science and Technology*, 18(111), 117–129. <https://doi.org/10.52547/fsct.18.111.117>
- Grafenauer, S., & Curtain, F. (2018). An audit of Australian bread with a focus on loaf breads and whole grain. *Nutrients*, 10(8), Article 1106. <https://doi.org/10.3390/nu10081106>
- Gravel, A., & Doyen, A. (2020). The use of edible insect proteins in food: Challenges and issues related to their functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59, Article 102272. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102272>



- Kodali, D., Hembrick-Holloman, V., Gunturu, D. R., Samuel, T., Jeelani, S., & Rangari, V. K. (2022). Influence of Fish Scale-Based Hydroxyapatite on Forcespun Polycaprolactone Fiber Scaffolds. *ACS omega*, 7(10), 8323–8335. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05593>
- Lau, K. Q., Sabran, M. R., & Shafie, S. R. (2021). Utilization of vegetable and fruit by-products as functional ingredient and food. *Frontiers in Nutrition*, 8, Article 661693. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.661693>
- Liu, X., Mu, T., Sun, H., Zhang, M., Chen, J., & Fauconnier, M. L. (2017). Comparative study of the nutritional quality of potato–wheat steamed and baked breads made with four potato flour cultivars. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68(2), 167–178. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1226272>
- Monteiro, M. L. G., Mársico, E. T., Soares Junior, M. S., Deliza, R., de Oliveira, D. C., & Conte-Junior, C. A. (2018). Tilapia-waste flour as a natural nutritional replacer for bread: A consumer perspective. *PloS one*, 13(5), Article e0196665. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196665.t002>
- Orkusz, A. (2021). Edible insects versus meat — Nutritional comparison: Knowledge of their composition is the key to good health. *Nutrients*, 13(4), Article 1207. <https://doi.org/10.3390/nu13041207>
- Prieto-Vázquez del Mercado, P., Mojica, L., & Morales-Hernández, N. (2022). Protein ingredients in bread: Technological, textural and health implications. *Foods*, 11(16), Article 2399. <https://doi.org/10.3390/foods11162399>
- Qajarbeygi, P., Kazeminia, M., & Mahmoudi, R. (2018). Determine the quality of bread samples used in Qazvin, Iran. *Journal of Chemical Health Risks*, 8(1), Article 1. <https://doi.org/10.22034/jchr.2018.544195>
- Sang, S., Ou, C., Fu, Y., Su, X., Jin, Y., & Xu, X. (2022). Complexation of fish skin gelatin with glutentin and its effect on the properties of wheat dough and bread. *Food Chemistry*, 14, Article 100319. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100319>
- Sharif, M. K., Saleem, M., Sharif, H. R., & Saleem, R. (2022). Enrichment and fortification of traditional foods with plant protein isolates. In A. Manickavasagan, L. T. Lim, A. Ali (Eds.). *Plant protein foods* (pp. 131–169). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-91206-2\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-91206-2_5)
- Vijaykrishnaraj, M., Bharath Kumar, S., & Prabhasankar, P. (2015). Green mussel (*Perna canaliculus*) as a marine ingredient to enrich gluten free pasta: Product quality, microstructure and biofunctional evaluation. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 9, 76–85. <https://doi.org/10.1007/s11694-014-9212-5>
- Zebib, H., Teame, T., Aregawi, T., & Meresa, T. (2020). Nutritional and sensory acceptability of wheat bread from fish flour. *Cogent Food & Agriculture*, 6(1), Article 1714831. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1714831>