

Том 55, № 3, 2025
Vol. 55, № 3, 2025

ISSN 2074-9414
ISSN 2313-1748

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

Food Processing:
Techniques and Technology



1} Кемеровский
государственный
университет
Объединяем
знания и людей

Национальный, рецензируемый научный журнал, посвященный вопросам пищевой промышленности и смежных отраслей. Журнал включен в SCOPUS, RSCI, ЕГПНИ (Белый список) – второй уровень, Перечень ВАК (категория К1).

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

интеллектуальной, преодоление разрыва между изданиями регионального, национального и федерального уровней.

Журнал призван освещать актуальные проблемы в пищевой и смежных отраслях, продвигать новые перспективные технологии в широкую аудиторию научных и практических работников, преподавателей, аспирантов, студентов, предпринимателей, а также оказывать содействие в процессе подготовки высококвалифицированных специалистов.

В журнале публикуются научные и обзорные статьи, краткие научные сообщения по направлениям: пищевые системы; биотехнология; технология пищевых производств; санитария и гигиена; экология; биобезопасность; частная зоотехния; экономика; электротехнологии, машины и оборудование для агропромышленного комплекса.

Подробная информация для авторов и читателей представлена на сайте <https://fppt.ru>

Главный редактор:

Просеков Александр Юрьевич, академик РАН, д-р техн. наук, д-р биол. наук, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия.

Зам. главного редактора:

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

Редакционная коллегия:

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

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

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

Бычкова Светлана Михайловна, д-р экон. наук, Гатчинский государственный университет, Гатчина, Россия;

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

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

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

Заушинцева Александра Васильевна, д-р биол. наук, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия;

Йнанг Ююн, Ph. D., Колледж пищевых наук Северо-Восточного сельскохозяйственного университета, Харбин, Китай;

Капанова Анна Борисовна, д-р физ.-мат. наук, Ярославский государственный технический университет, Ярославль, Россия;

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

Лобанов Владимир Григорьевич, д-р техн. наук, Кубанский государственный технологический университет, Краснодар, Россия;

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

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

Хотимченко Юрий Степанович, д-р биол. наук, Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия;

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

Юдаев Игорь Викторович, д-р техн. наук, Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, Краснодар, Россия.

Материалы публикуются на условиях лицензии CC BY 4.0.

Выпускающий редактор: А.И. Лосева

Ответственный за выпуск: Е.В. Дмитриева

Литературные редакторы: Е.А. Кривошеева, К.А. Николаева

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

Дизайн и компьютерная верстка: Е.В. Волкова

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

тел.: +7 (3842) 58-80-24
e-mail: fppt98@gmail.com

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

Дата выхода в свет 08.10.25

Усл. п. л. 27,32. Тираж 500 экз.

Цена свободная. Выходит 4 раза в год

Подписной индекс по интернет-каталогу агентства «Урал-Пресс» – 41672

Регистрационный номер СМИ серия ПИ № ФС77-72313 выдан Роскомнадзор

© Составление, сопроводительный текст, редакционно-издательское оформление, Кемеровский государственный университет, 2025

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

Агропромышленный комплекс России в текущих условиях демонстрирует высокую эффективность и способность устойчиво развиваться и обеспечивать внутренний рынок необходимыми объемами качественной продукции. Важной составляющей российского АПК является пищевая и перерабатывающая промышленность, имеющая стратегическое значение в обеспечении продовольственной безопасности страны. По данным Росстата, объем производства пищевых продуктов в России по итогам 2024 г. вырос на 3,5 %.

Пищевая и перерабатывающая промышленность России включает переработку сельхозпродукции, производство и выпуск готовых продуктов питания, напитков, а также табачных изделий. В ее состав входят 30 отраслей с более чем 60 подотраслями и видами производства. Одной из ведущих отраслей является кондитерская промышленность, обеспечивающая население широким ассортиментом сахаристых (шоколад, конфеты, карамель, пастила, мармелад, халва, восточные сладости) и мучных (торты, пирожные, печенье, вафли, пряники, кексы) кондитерских изделий. Данная продукция пользуется постоянно растущим спросом у населения и остается любимым элементом ежедневного рациона, особенно у детей.

В 2022 г. ряд иностранных компаний, специализирующихся на производстве кондитерских изделий, либо покинули российский рынок, либо значительно сократили инвестиции в развитие отрасли. Это позволило отечественным производителям увеличить присутствие и укрепить позиции на кондитерском рынке, наращивая производственные мощности, внедряя инновационные технологии и расширяя ассортимент кондитерских изделий. По итогам 2024 г. производство кондитерских изделий в России составило более 4,3 млн т, показав рост на 4 % по сравнению с 2023 г. Производители кондитерских изделий не только полностью обеспечивают внутренние потребности страны, но и наращивают поставки зарубежным потребителям. По данным федерального центра «Агроэкспорт», объем экспорта в 2024 г. увеличился на 9,4 %.

Неоценимый вклад в развитие российского кондитерского производства внесла Аксёнова Лариса Михайловна – академик РАН, профессор, доктор технических наук, заслуженный изобретатель РФ, заслуженный работник пищевой индустрии РФ.

Академик Л. М. Аксёнова – видный ученый в области технологии хлебопекарных, макаронных и кондитерских изделий. Ее научная и профессиональная деятельность непосредственно связана с созданием научных основ кондитерского производства, техническим перевооружением предприятий, созданием условий для производства конкурентоспособной продукции и обеспечением современной нормативной документации.

Более 20 лет Лариса Михайловна руководила НИИ кондитерской промышленности. Совместно с коллегами

активно занималась разработкой инновационных технологий мучных кондитерских изделий на фруктово-овощной основе при применении кавитационных способов обработки, что позволило расширить ассортимент кондитерских изделий с повышенным содержанием нативных витаминов, пищевых волокон и минеральных веществ. Л. М. Аксёнова – руководитель и исполнитель научной и технической части проекта по производству мучных кондитерских изделий детского и лечебно-профилактического питания.

При непосредственном участии Ларисы Михайловны разработаны: общесоюзная программа «Пища», «Концепция основных фундаментальных исследований и научно-технического обеспечения перерабатывающих отраслей АПК», программа «Пищевые продукты в реализации Концепции государственной политики здорового питания населения России на период до 2005 года», «Доктрина продовольственной безопасности Российской Федерации», «Основа государственной политики Российской Федерации в области здорового питания населения на период до 2020 года», «Стратегия развития пищевой и перерабатывающей промышленности Российской Федерации на период до 2020 года».

Л. М. Аксёнова – координатор фундаментальных и прикладных исследований в области разработки современных ресурсосберегающих инновационных технологий хранения и комплексной переработки сельскохозяйственного сырья, а также производства экологически безопасных продуктов питания общего и специального назначения. Под ее руководством разработано 25 межгосударственных и национальных стандартов, по которым осуществляется производство и контроль качества кондитерских изделий не только в России, но и в странах ЕАЭС.

Заслуги и достижения Ларисы Михайловны как в научной, так и в профессиональной деятельности отмечены наградами различных уровней. За создание многокомпонентных ферментных препаратов нового поколения для отраслей АПК в 2023 г. ей присвоено звание Лауреата премии Правительства РФ в области науки и техники. За заслуги в развитии отечественной науки, многолетнюю плодотворную деятельность и в связи с 300-летием со дня основания Российской академии наук в 2024 г. награждена почетной грамотой Президента РФ.

Лариса Михайловна продолжает вести научную и профессиональную деятельность, руководит научным направлением ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем имени В. М. Горбатова» РАН.

31 октября 2025 г. академик РАН, доктор технических наук, профессор Лариса Михайловна Аксёнова отмечает юбилей – 80 лет! Редакция журнала сердечно поздравляет Ларису Михайловну с этой знаменательной датой. Искренне желаем крепкого здоровья, неиссякаемой жизненной энергии, душевного спокойствия и тепла в кругу родных, коллег и учеников!

Ректор, главный редактор,
академик РАН, профессор,
Заслуженный работник высшей школы РФ,
Лауреат премии Правительства РФ в области науки и техники

А. Ю. Просеков 

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2584>
<https://elibrary.ru/DLHLEA>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Адаптация математической модели сушки при комбинированном энергоподводе к икорному рыбному сырью на основе кинетики его обезвоживания



З. М. Арабова¹, А. Х.-Х. Нугманов^{2,*}, Д. М. Бородулин²,
И. Ю. Алексанян³, С. А. Тихонов^{4,5}, Н. В. Тихонова⁵,
П. Д. Осмоловский²

¹ Институт геохимии и аналитической химии имени В. И. Вернадского РАН^{ROR}, Москва, Россия

² Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева^{ROR}, Москва, Россия

³ Астраханский государственный технический университет^{ROR}, Астрахань, Россия

⁴ Уральский государственный лесотехнический университет^{ROR}, Екатеринбург, Россия

⁵ Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

Поступила в редакцию: 04.03.2025

Принята после рецензирования: 25.04.2025

Принята к публикации: 01.07.2025

*А. Х.-Х. Нугманов: nugmanov@rgau-msha.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-4093-9982>

З. М. Арабова: <https://orcid.org/0000-0002-6787-7697>

Д. М. Бородулин: <https://orcid.org/0000-0003-3035-0354>

И. Ю. Алексанян: <https://orcid.org/0000-0001-5494-1226>

С. А. Тихонов: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Н. В. Тихонова: <https://orcid.org/0000-0001-5841-1791>

П. Д. Осмоловский: <https://orcid.org/0000-0003-1131-1552>

© З. М. Арабова, А. Х.-Х. Нугманов, Д. М. Бородулин, И. Ю. Алексанян,
С. А. Тихонов, Н. В. Тихонова, П. Д. Осмоловский, 2025



Аннотация.

Удаление влаги (сушка) из биологических материалов дает множество преимуществ, в том числе предотвращает рост микроорганизмов и порчу продукта, а также приводит к снижению затрат на обработку. Разные методы сушки отличаются концептуально и требуют модификации / адаптации в зависимости от высушиваемого биоматериала. Цель исследования – изучить кинетику и оптимальные режимы обезвоживания для повышения эффективности сушки квазижидких продуктов (икорное рыбное сырье) с помощью физико-математического моделирования тепломассопереноса и влагоудаления.

В работе проведена адаптация существующей математической модели сушки на основе данных о кинетике и обезвоживании икры рыб и лецитинового сгустка из нее при комбинированном энергоподводе. Данная математическая модель необходима для понимания распределения температурного фронта внутри высушиваемого биоматериала и оценки продолжительности сушки. Исследуемые рыбные объекты подвергались обезвоживанию воздушной смесью газов в режиме кондуктивно-конвективного подвода тепловой энергии в лабораторной оригинальной сушильной установке.

Полученные результаты расчетов были сопоставлены с результатами проведенных экспериментальных испытаний сушки для подобных биоматериалов. Рациональными режимными параметрами процесса сушки икорного продукта выбраны: интенсивность движения теплоносителя – 3,50 м/с; высота высушиваемого слоя – 0,01 м; температура поверхности высушиваемого материала и температура греющей пластины – 313 К; начальная температура для объекта исследования – 283 К; итоговая влажность – 0,10 кг/кг. В таком варианте удельная производительность равна 7,610 кг/(м²·ч), а время сушки до влажности 0,1 кг/кг – 150 мин. Рациональные режимные параметры процесса сушки лецитинового сгустка: интенсивность движения теплоносителя – 2,50 м/с; высота слоя – 0,003 м; температура поверхности высушиваемого материала и температура греющей пластины – 343 К; начальная температура для объекта исследования – 328 К; итоговая влажность – 0,130 кг/кг. При этом удельная производительность равна 13,630 кг/(м²·ч), а время сушки до влажности 0,130 кг/кг – 40 мин.

Моделирование процессов тепло- и массопереноса позволяет повысить точность расчета и реализовать потенциал энергосбережения без проведения экспериментов, сохраняя при этом качество высушенного продукта. Выявленные кинетические закономерности, оптимальные режимы обезвоживания и результаты моделирования процесса сушки могут быть использованы при проектировании процессов тепло- и массопереноса, а также при проектировании сушильных установок для икорного рыбного сырья.

Ключевые слова. Биоэкономика, икорное рыбное сырье, лецитиновый сгусток, кинетика сушки, комбинированный энергоподвод, математическая модель, метод конечных разностей

Для цитирования: Арабова З. М., Нугманов А. Х.-Х., Бородулин Д. М., Алексанян И. Ю., Тихонов С. Л. и др. Адаптация математической модели сушки при комбинированном энергоподводе к икорному рыбному сырью на основе кинетики его обезвоживания. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 454–467. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2584>

Combined Energy Supply Drying of Fish Eggs and Lecithin Clot Based on Dehydration Kinetics: Mathematical Model Adaptation



Zarema M. Arabova¹, Albert Kh.-Kh. Nugmanov^{2,*},
Dmitry M. Borodulin², Igor Yu. Aleksanyan³,
Sergey L. Tikhonov^{4,5}, Natalya V. Tikhonova⁵,
Pavel D. Osmolovskiy²

¹ Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry, Russian Academy of Sciences^{ROR}, Moscow, Russia

² Russian State Agrarian University – Timiryazev Moscow Agricultural Academy^{ROR}, Moscow, Russia

³ Astrakhan State Technical University^{ROR}, Astrakhan, Russia

⁴ Ural State Forest Engineering University^{ROR}, Yekaterinburg, Russia

⁵ Ural State Agrarian University, Yekaterinburg, Russia

Received: 04.03.2025

Revised: 25.04.2025

Accepted: 01.07.2025

*Albert Kh.-Kh. Nugmanov: nugmanov@rgau-msha.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-4093-9982>

Zarema M. Arabova: <https://orcid.org/0000-0002-6787-7697>

Dmitry M. Borodulin: <https://orcid.org/0000-0003-3035-0354>

Igor Yu. Aleksanyan: <https://orcid.org/0000-0001-5494-1226>

Sergey L. Tikhonov: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Natalya V. Tikhonova: <https://orcid.org/0000-0001-5841-1791>

Pavel D. Osmolovskiy: <https://orcid.org/0000-0003-1131-1552>

© Z.M. Arabova, A.Kh.-Kh. Nugmanov, D.M. Borodulin, I.Yu. Aleksanyan,
S.L. Tikhonov, N.V. Tikhonova, P.D. Osmolovskiy, 2025



Abstract.

Removing moisture from biological materials has many advantages since reduced volume means lower processing costs, and drying prevents microbial growth and spoilage. Despite the fact that different drying methods pursue the same goal, they differ conceptually and require modification / adaptation, depending on the biomaterial. The article describes the kinetics and optimal dehydration modes that increase the drying efficiency of quasi-liquid products (roe and skein complex) using physical and mathematical modeling of heat and mass transfer and moisture removal.

The existing mathematical model for drying with combined energy supply was adapted to fish eggs and lecithin clot. The dehydration kinetics made it possible to understand the temperature distribution inside the dried biomaterial and estimate the drying time. A gas mix served as a drying agent. The calculations were compared with the experimental drying tests for similar biomaterials. The materials were subjected to dehydration in the mode of conductive-convective heat supply in an original laboratory drying unit. The authors identified the kinetic patterns and rational mode parameters to increase the performance.

The rational operating parameters included the intensity of the coolant movement (3.50 m/s); the height of the dried layer (0.01 m); the surface temperature of the dried material and the temperature of the heating plate (313 K); the initial temperature (283 K); the final moisture content (0.10 kg/kg). Under these parameters, the specific productivity was 7.610 kg/(m²·h), and the drying time to 0.1 kg/kg humidity was 150 min. The rational operating parameters of the lecithin clot included the coolant feeding rate (2.50 m/s); the layer height (0.003 m); the surface temperature of the dried material and the temperature of the heating plate (343 K); the initial temperature (328 K); the final humidity (0.130 kg/kg). In this case, the specific productivity was 13.630 kg/(m²·h), and the drying time to 0.130 kg/kg humidity was 40 min.

Heat and mass transfer modeling increases the accuracy of calculation, making it possible to realize the energy saving potential without preliminary experiments while maintaining the quality of the dried product. In this research, the kinetic patterns, optimal dehydration modes, and drying models can be applied to heat and mass transfer processes under different production conditions, as well as to design new drying units for fish eggs and lecithin curd.

Keywords. Bio-economics, caviar raw materials, lecithin clot, drying kinetics, combined energy supply, mathematical model, finite difference method

For citation: Arabova ZM, Nugmanov AKh-Kh, Borodulin DM, Aleksanyan IYu, Tikhonov SL, *et al.* Combined Energy Supply Drying of Fish Eggs and Lecithin Clot Based on Dehydration Kinetics: Mathematical Model Adaptation. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):454–467. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2584>

Введение

Интенсивная реализация невозобновляемой сырьевой базы при росте населения планеты отрицательно воздействует на окружающую среду, обуславливая необходимость поиска стратегических путей стабильного развития. В таком ракурсе применение альтернативной ресурсной базы взамен ископаемой и разработка возобновляемых технологий, опирающихся на перспективу стабильного развития, является особенно значимой. Трансфер от линейного экономического развития к замкнутой циклической экономике в современных условиях выступает рациональным вектором экологически безопасного и эффективного управления биологическим ресурсом, т. к. концепция стабильного развития в основном опирается на цикличность переработки как востребованного биологического сырья, так и получаемых побочных продуктов. Замкнутая циклическая биоэкономика имеет существенное значение для обеспечения ресурсосбережения, экологической безопасности и стабильности. В ней участвуют продукты биологической природы, и она имитирует или реализует природные процессы, позволяющие эффективно перерабатывать сырьевую базу [1–3]. Согласно Европейской комиссии, под биоэкономикой подразумевают выработку возобновляемых биоресурсов и их трансформацию, а также отходов в материалы с добавленной стоимостью, включая пищевые, кормовые, биопродукты и энергию [4, 5]. В итоге антропогенное использование природной сырьевой базы уменьшается, и приток возобновляемых ресурсов стабилизируется, при этом негативное влияние на окружающую среду минимизируется. Таким образом, рост заинтересованности, в том числе и посредством информационного потока, к более экологически безопасным стабильным процессам способствует повышению внимания к реализации невостребованного рыбного сырья, в частности, к отходам при переработке [6–8].

Ежегодно существенные объемы рыбного сырья не утилизируются и выбрасываются в окружающую среду, снижая ее экологическую безопасность [9–11], или реализуются для выработки малоценных материалов. В настоящий момент отходы рыбного происхождения, сравнимые по доле белка с филе рыб, реализуются преимущественно для получения рыбной муки [12–16]. Химический состав отходов переработки рыбы позволяет обогащать компост и, тем самым, вводить питательные компоненты в почву. Кроме того, отходы имеют перспективу для получения различных сельскохозяйственных удобрений [17], некоторые разработки уже реализуются в сельском хозяйстве [18]. В рыбных отходах присутствует значительная доля органических биоразлагаемых субстанций, реализуемых как субстрат для активного ила с целью повышения эффективности получения метана в процессе анаэробного комплексного сбраживания [19, 20].

Свыше 70 % улова направляется на обработку [21, 22], что обуславливает формирование от 20 до 80 %

отходов с учетом степени переработки, включая потрошение, удаление чешуи, разделку и вид рыбного сырья, т. к. каждому виду свойственен определенный химический и компонентный состав, размерные параметры и форма [23, 24]. Отходы представляют собой мясную обрезь (15–20 %), плавники и кожный покров (1–3 %), кости (9–15 %), головы (9–1 %), внутренние органы (12–18 %) и чешую (5 %) [25–27]. Переработка рыбного сырья особенно важна крупномасштабным рыболовческим организациям для уменьшения расходов на транспортировку и утилизацию, главным образом несъедобных компонентов, а также для роста устойчивости и качественных показателей при очистке от внутренностей, включающих бактерии и ферменты, опасные при обработке и хранении рыбного сырья [28].

Вторичное рыбное сырье из внутренностей включает ястычно-икорный комплекс, который также может применяться с целью производства широкого спектра ценных и дорогих материалов, в том числе функционально ориентированных [29–32]. Значительное содержание белка, полиненасыщенных жирных кислот, макро- и микроэлементов в сравнении с другими внутренностями делает невостребованную икру целесообразным сырьем для последующей реализации оригинальных способов выработки из нее большого спектра инновационных продуктов. В этой связи особое внимание необходимо уделить вопросам ее переработки, например, с использованием сушильных технологий [33–35].

Рыбное сырье является многокомпонентной системой, в которой вода играет важную роль; влажность как ее характеристика определяет консистенцию и структуру вещества, а также влияет на его устойчивость при хранении [36, 37]. Одним из способов консервирования биологических материалов является обезвоживание, обеспечивающее их экономичную транспортировку и хранение до последующей переработки [38–40].

Цель данного исследования – выявление кинетических закономерностей и рациональных режимных параметров процесса обезвоживания для повышения эффективности сушки, а также проведение физико-математического моделирования [41, 42] для анализа тепломассопереноса и механизма влагоудаления в процессе сушки квазижидких продуктов, к которым и относится икорно-ястычный комплекс. Определение энергоемкости процесса обезвоживания на базе термодинамического анализа гигроскопических параметров и комплекса характеристик объектов исследования было осуществлено в предыдущих исследованиях авторов [43].

Объекты и методы исследования

Объекты исследования – икорный продукт, соответствующий по морфологии IV стадии зрелости, из толстолобика, сазана, судака и сома, выловленных в нижевожском бассейне Астраханской области, а также лецитин-содержащий сгусток, получаемый из указан-

ного икорного сырья. В рекомендованных вариантах сушки икорного продукта и лецитинового сгустка, где в качестве объекта обработки используется икра рыб, предусмотрено влагоудаление из ее слоя на поверхности обогреваемого барабана или ленточного конвейера. При выборе эффективного режима удаления влаги с использованием кондуктивно-конвективного подвода тепловой энергии рационально обеспечить максимально простую конструкцию сушилки и интенсифицировать операцию обезвоживания. Для построения и решения физико-математической модели тепло-массопереноса и выявления его механизма в ходе влагоудаления из квазиджидких субстанций следует определить кинетические закономерности как для внутреннего тепло-массопереноса, так и на границе фазового раздела [44, 45].

Среди подходов к анализу кинетики высушивания выделяют аналитические, эмпирические и опытно-аналитические [46, 47]. Кинетические закономерности выявляли посредством статистических способов планирования и обработки опытных результатов, при этом границы варьирования влияющих не кинетику процесса сушки факторов устанавливались с учетом технологических лимитов для обеспечения качественных и, как следствие, потребительских показателей сухого материала. Опытный стенд для решения поставленных задач схематично изображен на рисунке 1.

Данный стенд позволяет регулировать режимные факторы (температура греющей подложки теплового агента, интенсивность его движения, высота слоя навески). Для выявления кинетических закономерностей опытные кривые обезвоживания строятся и математически описываются как закономерность варьирования средней по слою влажности в течение операции сушки.

При обработке опытных результатов за целевую функцию принята удельная производительность или съём высушенного материала Y , кг/(м²·ч):

$$Y = \frac{M}{\tau \times S} \quad (1)$$

где M – масса сухого образца, кг; τ – длительность удаления влаги, ч; S – площадь, занимаемая навеской, м².

При анализе и моделировании явлений теплообмена между фазами, в частности при конвективном обезвоживании слоя продукта, необходимо определение коэффициента теплоотдачи α , Вт/(м²·К), рассчитываемого по опытным данным или из соотношений в обобщенных переменных (критериях) для конкретной ситуации. При влагоудалении из икорного продукта и лецитинового сгустка важно высушить их тонкий слой на поверхности обогреваемого барабана или ленты конвейера, т. е. применить комбинацию контактного (кондуктивного) и конвективного подводов тепловой энергии с каждой стороны слоя соответственно (рис. 2). В связи с этим для расчета α целесообразно использовать модифицированный метод, приведенный в работах [48, 49].

Соотношение в обобщенных переменных, включающее коэффициент теплоотдачи для теплообмена в пространстве между пластинами (рис. 1) при вынужденной конвекции теплоносителя, выглядит следующим образом:

$$Nu = \frac{\alpha \times L}{\lambda_{sr}} = 0,037 \times Re_L^{0,8} \times Pr_{sr}^{0,43} \times \left(\frac{Pr_{sr}}{Pr_s} \right)^{0,25} \quad (2)$$

где L – определяющий размерный параметр, м; λ_{sr} – коэффициент теплопроводности теплового агента, Вт/(м·К); Re_L – критерий Рейнольдса; Pr_{sr} , Pr_s – число Прандтля при фиксированной температуре тепло-

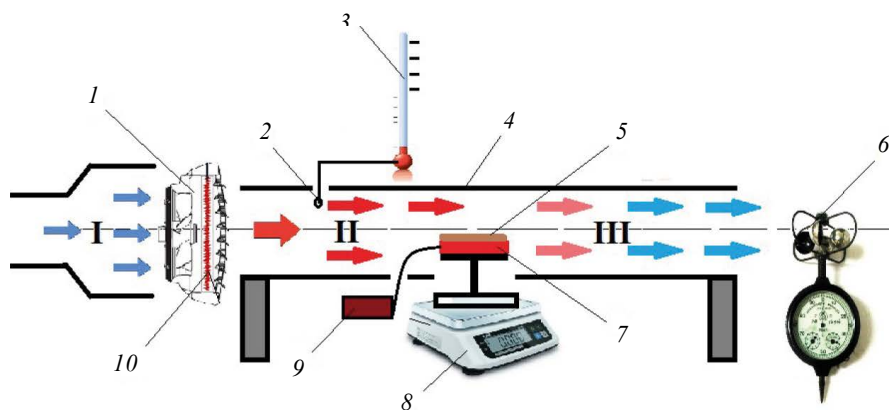


Рисунок 1. Опытный стенд для исследования операции влагоудаления: Потoki: I – охлажденной воздушной среды; II – теплоносителя с определенной температурой и интенсивностью движения; III – отработанного теплоносителя; 1 – воздуходувка; 2 – термодатчик; 3 – термопара; 4 – обечайка установки; 5 – навеска материала; 6 – электронный анемометр; 7 – нагретая подложка; 8 – весовое устройство; 9 – источник электропитания; 10 – калориферный узел

Figure 1. An experimental stand for moisture removal research: Flows of: I – cooled air; II – coolant with a certain temperature and feeding rate; III – spent coolant; 1 – blower; 2 – thermal sensor; 3 – thermocouple; 4 – installation shell; 5 – material attachment; 6 – electronic anemometer; 7 – heated substrate; 8 – weighing device; 9 – power supply; 10 – heater assembly

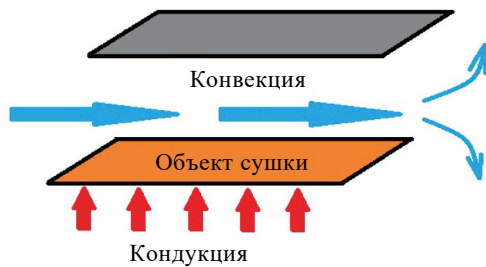


Рисунок 2. Схема обезвоживания икорного продукта для обоснования выбора расчетного уравнения коэффициента теплоотдачи

Figure 2. Dehydration scheme: selecting calculation equation of heat transfer coefficient

носителя на входе в зону сушки и средней температуре на поверхности икорного продукта и лецитинового сгустка.

Определить температуру при сушке в слое икорного продукта и лецитинового сгустка можно теоретически – путем решения системы уравнений тепловлагопереноса в частных производных, что связано с определенными трудностями и погрешностями. Для упрощения задачи можно ограничиться решением соотношения для переноса тепловой энергии, используя эмпирические и кинетические закономерности процесса обезвоживания. При этом резонно учитывать принципы и допущения, аргументированные в работах [50, 51]. Математическая модель в таком варианте трансформируется при совмещении в одном соотношении системы дифференциального уравнения теплопереноса и опытного уравнения кинетики влагоудаления.

Решение комплексного соотношения проведено методом конечных разностей в среде Mathcad Professional с учетом эмпирических закономерностей варьирования физико-химических характеристик икорного продукта и лецитинового сгустка при обезвоживании. Данный метод подразумевает трансформацию непрерывной задачи в дискретный аналог в форме разностной схемы. Дифференциальное соотношение при этом сводится к системе линейных или нелинейных уравнений с разреженными матрицами. В итоге приближенного численного решения выявляется распределение температуры по узловым точкам сетчатой области в поперечном разрезе слоя икорного продукта и лецитинового сгустка в течение процесса сушки.

В результате принятых допущений и математических преобразований в одномерном варианте комплексное соотношение тепломассопереноса представляется как:

$$\frac{\partial T}{\partial C} = \frac{a}{\partial C / \partial \tau} \times \frac{\partial^2 t}{\partial x^2} + \frac{r\rho}{c_v} \quad (3)$$

где x – координата глубины по высоте слоя икорного продукта или лецитинового сгустка, м; a – их температуропроводность, $\text{м}^2/\text{с}$; $\partial C / \partial \tau$ – интенсивность

влагоотдачи, $\text{кг}/(\text{кг} \cdot \text{с})$, при условии изотропности слоя по доле сухого остатка в определенный момент времени; r – энергия фазового превращения и разрыва связи влаги с сухим остатком, $\text{Дж}/\text{кг}$, выявленная путем термодинамического анализа статических закономерностей десорбции икорного продукта и лецитинового сгустка; ρ – их плотность, $\text{кг}/\text{м}^3$; c_v – их объемная теплоемкость, $\text{Дж}/(\text{м}^3 \cdot \text{К})$.

При определенных краевых условиях имеем закономерность $t = f(C, x)$. Для удобства восприятия при изменении отрицательного знака перед скоростью сушки на положительный и обеспечении роста переменной дифференцирования концентрации в отличие от влажности примем во внимание, что $C = 1 - W$.

Граничные условия для теплообмена при контакте икорного продукта и лецитинового сгустка с теплоносителем представим как:

$$\lambda(C) \frac{\partial t}{\partial x} = -\alpha(T_{c.a.} - T_{пов}) \quad (4)$$

где $T_{c.a.}$ – температура теплоносителя, К; $T_{пов}$ – температура поверхности икорного продукта и лецитинового сгустка, К.

Граничные условия при контакте икорного продукта с $T = 283 \text{ К}$ (лецитинового сгустка с 328 К) с греющей поверхностью температурой 313 К (для икорного продукта) и 343 К (для лецитинового сгустка) представляют собой:

$$T_{пов} = 313 - e^{5(C_{нач} - C)} \quad (5)$$

где $T_{пов}$ – температура поверхности икорного продукта и лецитинового сгустка, К; $C_{нач}$ – исходная и C – текущая доля сухого вещества в них, $\text{кг}/\text{кг}$.

Результаты и их обсуждение

Для исследуемого икорного продукта температура теплоносителя, как и греющей подложки, лимитирована значением 313 К , поскольку при превышении данного предела возможна деструкция лецитина. Ввиду этого в ходе применения различных технологий по извлечению лецитина, например из желтка куриных яиц – патент RU2255559C2, авторское свидетельство № 1496746 А1 и [52], используется стадия обезвоживания в роторно-вакуумном аппарате при температуре, не превышающей 313 К . Для лецитинового сгустка обозначенные выше температуры лимитированы значением 343 К согласно температуре предварительной операции экстрагирования. Интенсивность перемещения теплоносителя ограничена $2,7 \text{ м}/\text{с}$ для лецитинового сгустка и $3,5 \text{ м}/\text{с}$ для икорного продукта, поскольку превышение этих пределов обуславливает деструкцию пограничного слоя данных материалов.

За фактор, обуславливающий интенсивность сушки от исходной W_n до итоговой W_k , приняли высоту слоя ($h_{вм}$). Не варьируемые факторы – интенсивность движения теплоносителя ($v_{c.a.}$, $\text{м}/\text{с}$) вдоль поверхности

высушиваемого материала, температура сушильного агента ($T_{с.а.}$), греющей пластины ($T_{г.п.}$) и начальная температура для объектов исследования ($T_{вм.}$). Значения варьируемых факторов, влияющих на кинетические характеристики процесса сушки для икорного сырья и лецитин-содержащего сгустка, приведены в таблице 1. Значения не варьируемых факторов, оказывающих воздействие на кинетические характеристики процесса сушки для икорного сырья и лецитин-содержащего сгустка, приведены в таблице 2.

В результате пятикратного дублирования каждого опыта (табл. 3) получены кривые влагоудаления икорного продукта (отдельные кривые показаны на рисунке 3).

Из опытных серий по обезвоживанию икорного продукта (табл. 3) следует, что удельный съем сухого продукта при $h_{вм.} = 0,005$ м меньше по отношению к $h_{вм.} = 0,015$ м, несмотря на большую длительность сушки (около 2,5 ч). При рассмотрении среза конечного икорного продукта при $h_{вм.} = 0,015$ м, судя по изменению цвета от оранжевого до бледно-серого, в нем присутствовали недосушенные участки, что обуславливает рациональную высоту слоя $h_{вм.} = 0,01$ м.

При изменении высоты важно учитывать, что ее увеличение обуславливает вероятность локального подгорания и растрескивания при пересушке пограничных слоев икорного продукта и влажных внутренних прослоек. При более тонком слое (5 мм) время влагоудаления снижается почти вдвое, что дает возможность

снизить рабочую длину транспортирующего органа. В итоге рациональной высотой принята $h = 10$ мм, которая после проведения процесса сушки вследствие усадки падает до 6–8 мм.

Таблица 3. Результаты опытной серии по обезвоживанию икорного продукта

Table 3. Experimental dehydration results: fish eggs

$v_{\text{с.а.}}, \text{ м/с}$	$T_{\text{с.а.}}, \text{ К/}t_{\text{г.п.}}, \text{ К}$	$h_{\text{вм}}, \text{ м}$	$\tau, \text{ с}$	$Y, \text{ кг/}(\text{м}^2 \cdot \text{ч})$
Икра толстолобика				
3,5	313/313	0,005	5600	6,85
		0,010	7300	7,85
		0,015	8800	8,71
Икра сазана				
3,5	313/313	0,005	5700	6,78
		0,010	7500	7,72
		0,015	9000	8,57
Икра судака				
3,5	313/313	0,005	6100	6,41
		0,010	7800	7,49
		0,015	9300	8,39
Икра сома				
3,5	313/313	0,005	5900	6,52
		0,010	7700	7,49
		0,015	9200	8,35
Средние значения для икорного сырья				
3,5	313/313	0,005	5825	6,58
		0,010	7575	7,61
		0,015	9075	8,46

Примечание: для подложки $S = 0,002$ м² плотность, кг/м³: для толстолобика – 1062, сазана – 1071, судака – 1083, сома – 1069, средняя – 1066,5 (справочная информация).

Note: for a substrate area of 0.002 m², density, kg/m³: for silver carp – 1062, carp – 1071, pike perch – 1083, catfish – 1069, average – 1066.5 (reference information).

Таблица 1. Варьируемые факторы процесса обезвоживания для икорного сырья и лецитин-содержащего сгустка

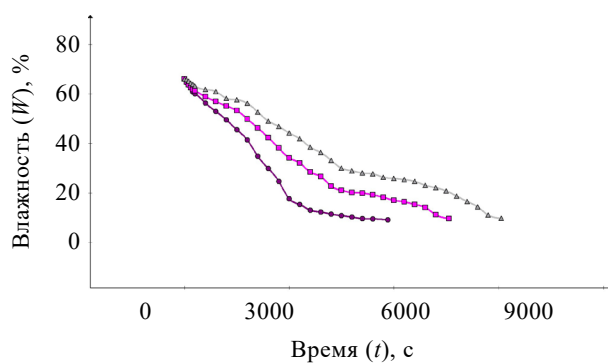
Table 1. Variable dehydration parameters for fish eggs and lecithin clot

$W_{\text{н}}$, кг/кг	$h_{\text{вм}}$, м	$W_{\text{к}}$, кг/кг
Икорный продукт		
0,66	0,005	0,10
	0,010	
	0,015	
Лецитиновый сгусток		
0,78	0,003	0,13
	0,006	
	0,010	

Таблица 2. Не варьируемые факторы процесса обезвоживания для икорного сырья и лецитин-содержащего сгустка

Table 2. Constant dehydration parameters for fish eggs and lecithin clot

W_n , кг/кг	$v_{с.а.}$, м/с	$T_{с.а.}$, К	$T_{вм.}$, К	$T_{г.п.}$, К	W_k , кг/кг
Икорный продукт					
0,66	3,5	313	283	313	0,10
Лецитиновый сгусток					
0,78	2,5	343	328	343	0,13



▲ Высота слоя ($h_{вм.}$) 0,015 м ■ Высота слоя ($h_{вм.}$) 0,010 м
● Высота слоя ($h_{вм.}$) 0,005 м

Параметры сушки: скорость теплоносителя ($v_{с.а.}$) – 3,5 м/с; температура теплоносителя ($T_{с.а.}$) – 313 К; температура подложки ($T_{г.п.}$) – 313 К; температура объекта сушки ($T_{вм.}$) – 283 К

Рисунок 3. Кривые сушки икорного продукта

Figure 3. Drying curves: fish eggs

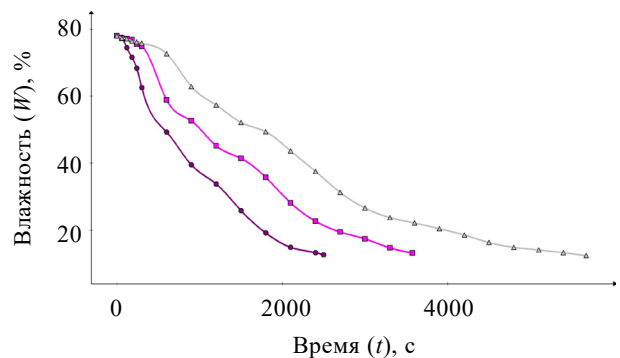
Таким образом, за рациональные режимные параметры процесса сушки икорного продукта выбраны следующие: $v_{c.a.} = 3,50$ м/с; $h_{bm} = 0,01$ м; $T_{c.a.}$ и $T_{г.п.}$ равны 313 К; $T_{bm} = 283$ К; $W_k = 0,10$ кг/кг. В таком варианте $Y = 7,61$ кг/(м²·ч), а время сушки до $W = 0,1$ кг/кг составит 9000 с.

Результатом опытной серии при пятикратном дублировании каждого опыта (табл. 4) получены кривые влагоудаления лецитинового сгустка (отдельные кривые показаны на рисунке 4).

Из опытных серий по обезвоживанию лецитинового сгустка (табл. 4) следует, что удельный съем сухого продукта при $h_{bm} = 0,003$ м меньше по отношению к $h_{bm} = 0,06$ м, при этом разница между величинами удельного съема сухого продукта для этих двух показателей оказалась незначительной. Использование в процессе сушки слоя лецитинового сгустка толщиной 3 мм приводит к сокращению времени сушки на 43 %, что позволяет снизить рабочую длину транспортирующего органа. Это незначительно уменьшает удельный съем сухого продукта. Исходя из приведенных результатов, рекомендована рациональная высота исходного слоя, равная 3 мм. После проведения процесса сушки, с учетом усадки, высота слоя конечного продукта составит от 1,0 до 1,2 мм.

Таким образом, рациональные режимные параметры процесса сушки лецитинового сгустка: $v_{c.a.} = 2,50$ м/с; $h_{bm} = 0,003$ м; $T_{c.a.}$ и $T_{г.п.}$ равны 313 К; $T_{bm} = 328$ К; $W_k = 0,130$ кг/кг. При этом $Y = 13,630$ кг/(м²·ч), а время сушки до $W = 0,130$ кг/кг составит 2400 с.

Механизм влагопереноса можно выявить и проанализировать более наглядно с помощью закономерностей изменения его интенсивности, которые иллюстрируют кривые скорости высушивания. Эти кривые, полученные путем дифференцирования и математической обработки данных сушки, отражают зависимость скорости высушивания от концентрации продукта. Для упрощения аргумент времени в кинетических зависимостях



▲ Высота слоя (h_{bm}) 0,010 м ■ Высота слоя (h_{bm}) 0,006 м
● Высота слоя (h_{bm}) 0,003 м

Параметры сушки: скорость теплоносителя ($v_{c.a.}$) – 2,5 м/с; температура теплоносителя ($T_{c.a.}$) – 343 К; температура подложки ($T_{г.п.}$) – 343 К; температура объекта сушки (T_{bm}) – 328 К

Рисунок 4. Кривые сушки лецитинового сгустка

Figure 4. Drying curves: lecithin clot

Таблица 4. Результаты опытной серии по обезвоживанию лецитинового сгустка

Table 4. Experimental dehydration results: lecithin clot

$v_{c.a.}$, м/с	$T_{c.a.}$, К/ $T_{г.п.}$, К	$h_{вм}$, м	τ , с	Y , кг/(м ² ·ч)
Икра толстолобика				
2,5	343/343	0,003	2700	12,48
		0,006	3600	14,04
		0,010	5700	11,85
Икра сазана				
2,5	343/343	0,003	2400	14,06
		0,006	3500	14,56
		0,010	5800	11,70
Икра судака				
2,5	343/343	0,003	2500	13,61
		0,006	3700	13,67
		0,010	5500	12,27
Икра сома				
2,5	343/343	0,003	2400	14,10
		0,006	3500	14,61
		0,010	5700	11,96
Средние значения для икорного сырья				
2,5	343/343	0,003	2500	13,63
		0,006	3575	14,25
		0,010	5675	11,91

Примечание: для подложки $S = 0,002$ м² плотность лецитинового сгустка, кг/м³: для толстолобика – 936; для сазана – 942; для судака – 939; для сома – 945; средняя плотность – 940,5 (справочная информация).

Note: for a substrate area of 0.002 m², density, kg/m³: for silver carp – 936; carp – 942; pike perch – 939, catfish – 945; average – 940.5 (reference information).

заменен на концентрации с помощью обратных функций $\tau = f(C)$, представленных на рисунке 5 и описанных математически:

для икорного продукта

$$\tau = 6,779 \times 10^4 C^3 - 1,117 \times 10^5 C^2 + 6,942 \times 10^4 C - 1,359 \times 10^4 \quad (6)$$

для лецитинового сгустка

$$\tau = 8490,8C^3 - 9303,6C^2 + 5286,2C - 777,6 \quad (7)$$

Сразу после взятия производной от уравнений 6 и 7 по C , кг, имеем $\partial C / \partial \tau = f(C)$, а далее – ее обратную функцию:

$$\partial C / \partial \tau = \frac{1}{f(C)}$$

Данная функция представлена на рисунке 6, описана математически:

для икорного продукта

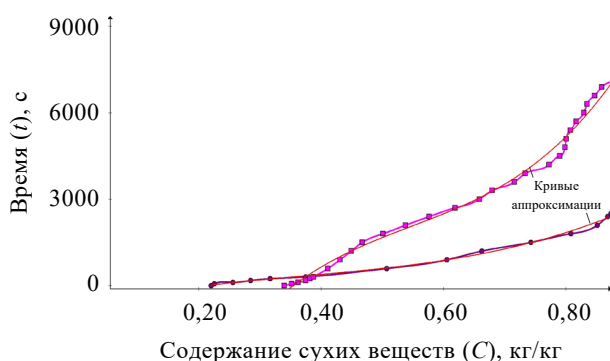
$$\partial C / \partial \tau = \frac{1}{20,337 \times 10^4 C^2 - 2,234 \times 10^5 C + 6,942 \times 10^4} \quad (8)$$

для лецитинового сгустка

$$\partial C / \partial \tau = \frac{1}{25472,4C^2 - 18607,2C + 5286,2} \quad (9)$$

На кинетических кривых (рис. 6) прослеживаются две стадии влагоудаления, что соответствует данным [41, 45, 49–51].

На первой стадии влагоудаление повышается до пика $\partial C / \partial \tau$ по причине отвода от границы фазового раздела



- Параметры сушки икры:
 скорость теплоносителя ($v_{с.а.}$) – 3,5 м/с; температура теплоносителя ($T_{с.а.}$) – 313 К; температура подложки ($T_{г.п.}$) – 313 К; температура объекта сушки ($T_{вм.}$) – 273 К; высота слоя ($h_{вм.}$) – 10 мм
- Параметры сушки лецитинового сгустка:
 скорость теплоносителя ($v_{с.а.}$) – 2,5 м/с; температура теплоносителя ($T_{с.а.}$) – 343 К; температура подложки ($T_{г.п.}$) – 343 К; температура объекта сушки ($T_{вм.}$) – 328 К; высота слоя ($h_{вм.}$) – 3 мм

Рисунок 5. Обратные кривые сушки

Figure 5. Inverse drying curves

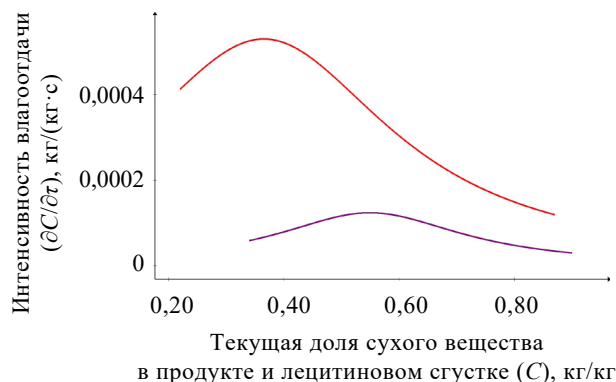


Рисунок 6. Кинетические кривые икорного продукта и лецитинового сгустка

Figure 6. Kinetic curves: fish eggs and lecithin clot

воды в свободном состоянии. Интенсивное парообразование такой влаги исключает повышение температуры выше заданного предела при несущественной усадке образца, которую можно не учитывать. С ростом концентрации уменьшается зазор между мицеллами дисперсной среды. На этой стадии с повышением температуры начинает формироваться капиллярно-пористая структура икорного продукта. После окончания первой стадии сушки влажность в пограничном слое икорного продукта приобретает гигроскопическую величину, и при повышении температуры начинается отвод воды в связанном состоянии (адсорбционно-связанной и структурной воды).

На втором этапе после пика ввиду роста разницы между расходом парообразной воды от границы фазового раздела и ее расходом при внутреннем массопереносе наблюдается углубление зоны парообразования. Температура при этом растет, стремясь приблизиться к температуре теплоносителя, что может привести к деструкции поверхностных слоев из-за парообразования. Перенос структурной парообразной влаги из замкнутых ячеек термодинамически идентичен переносу жидкой среды. Температура на мениске капилляра или пленке варьируется в зависимости от давления, что определяет превышение скорости внешнего парообразования над скоростью внутренней конденсации (эндо- и экзотермический эффекты с разных сторон мениска).

Показанную на рисунке 2 комбинированную термообработку материала можно интерпретировать как перемещение его вдоль греющей поверхности, так и по каналу. За определяющий размер в первом варианте принимают протяженность, а во втором – размерный параметр поперечного сечения канала. Несмотря на дискуссионность данного вопроса, в случае конвективного обогрева ключевым параметром считают протяженность траектории обдуваемой поверхности контакта с теплоносителем от исходного положения до точки перехода к устойчивому стационарному обмену тепловой

энергией соответственно и к стабилизации коэффициента теплоотдачи. Определяющим размером при продольном обтекании объекта, как правило, принято считать значение, установленное технико-экономическими лимитами при проектировании теплообменных установок.

Проведенные опыты показали, что для сохранения приемлемых органолептических и структурных показателей сухого икорного продукта или лецитинового сгустка (без учета их термолабильности с точки зрения химического состава) предел температуры теплового агента составляет 373 К [50, 51, 53, 54]. Лимит интенсивности его движения – 2,7 м/с для лецитинового сгустка и 3,5 м/с для икорного продукта, вне зависимости от того, используется ли прямо- или противоточная организация процесса влагоудаления. Величина определяющего размера ограничивается 0,5 м в варианте использования эквивалентного диаметра канального сечения d_3 , который рассчитывается следующим образом [54]:

$$d_3 = \frac{4S}{\Pi} \quad (10)$$

где S – площадь поперечного прямоугольного сечения канала при ширине и высоте 0,5 и 0,125 м соответственно; Π – смоченный периметр участка канала при неполном его заполнении, который определяется как сумма ширины и удвоенной высоты слоя икорного продукта или лецитинового сгустка, при тонком слое высоту можно не учитывать.

Преобразуя соотношение (2) с учетом коррекции числового коэффициента имеем:

$$\alpha = 4,35 \left(\frac{\rho_{sr} \omega_{sr}}{L} \right)^{0,4} \times \frac{\lambda_{sr}^{0,67} \times C_{sr}^{0,33}}{\mu_{sr}^{0,07} \times D^{0,2}} \times \Psi^{0,25} \quad (11)$$

$$\Psi = \frac{Pr_{sr}}{Pr_s} \quad (12)$$

где для теплового агента ρ_{sr} – плотность, кг/м³; ω_{sr} – интенсивность движения, м/с; C_{sr} – теплоемкость, Дж/(кг·К); μ_{sr} – динамическая вязкость, Па·с; D – высота канала, м; Ψ – величина симплекса.

Значение $L = 0,5$ м может уточняться посредством сопоставления решения модели с применением рассчитанного коэффициента теплоотдачи и опытных результатов по итоговой температуре икорного продукта и лецитинового сгустка. В таблице 5 приведены данные для определения коэффициента теплоотдачи при наибольшей допустимой $T = 273$ К теплового агента при влагоудалении из икорного продукта и лецитинового сгустка.

Величина симплекса (Ψ) обусловлена средней температурой поверхности слоя материала, влияющей на скорость обезвоживания, поскольку рост температуры приводит к увеличению сушильного потенциала теплового агента (психрометрическая разница температур) и, как следствие, к повышению интенсивности внутреннего влагопереноса при увеличении коэффициента потенциалопроводности икорного продукта и лецитинового сгустка.

Процесс обезвоживания можно охарактеризовать посредством зависимостей температуры объектов влагоудаления от его длительности [57]. У множества пищевых материалов при индустриальном обезвоживании наблюдается разница между температурой теплоносителя и объекта обезвоживания в 15–20 %. Из этих соображений для расчета симплекса принимаем среднюю поверхностную температуру икорного продукта и лецитинового сгустка, равную ≈ 353 К.

В таблице 6 приведены результаты расчета с учетом кинематической вязкости и температуропроводности теплового агента.

На рисунке 7 показана графическая закономерность варьирования α в зависимости от ω_{sr} при принудительной конвекции и $T \approx 373$ К теплового агента, а образца ≈ 353 К.

Графическая зависимость, представленная на рисунке 7, позволяет оперативно определить величину α по значению скорости сушильного агента. Оперативность выражается тем, что значение сушильного агента для конкретных условий конвективной сушки является постоянной величиной, а погрешность определяемого α , получаемая графическим методом, укладывается в допустимые для инженерных расчетов пределы.

Таблица 5. Данные для определения коэффициента теплоотдачи

Table 5. Data for determining the heat transfer coefficient

D , м	ω_{sr} , м/с	μ_{sr} , Па·с [56]	ρ_{sr} , кг/м ³ [56]	L , м	C_{sr} , Дж/(кг·К) [56]	λ_{sr} , Вт/(м·К) [56]
0,1250	2,70	$21,91 \cdot 10^{-6}$	0,947	0,50	1008	0,032

Таблица 6. Результаты расчета симплекса

Table 6. Simplex calculation results

t , К	Место определения	ν , м ² /с	α , м ² /с	Ψ
373	ядро теплового агента	$23,131 \cdot 10^{-6}$	$33,6110^{-6}$	0,986
353	на поверхности теплового агента	$21,089 \cdot 10^{-6}$	$30,19 \cdot 10^{-6}$	

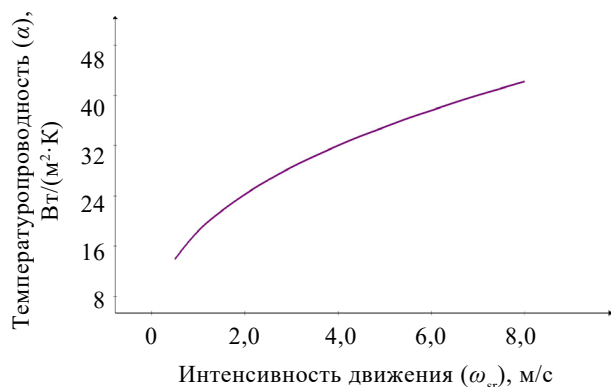


Рисунок 7. Закономерность варьирования температуропроводности в зависимости от интенсивности движения

Figure 7. Variation patterns for thermal conductivity (α) depending on feeding rate (ω_{sr})

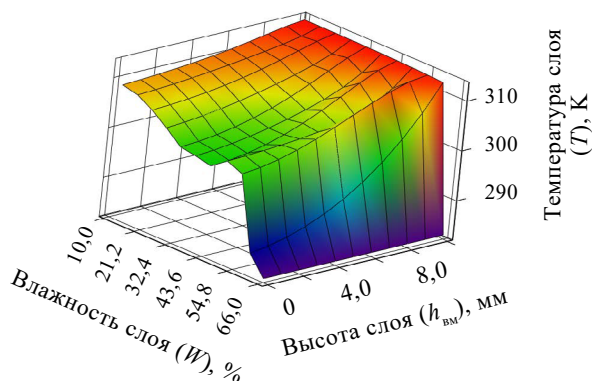


Рисунок 8. Характер продвижения фронта температуры по слою икорного продукта в процессе сушки

Figure 8. Temperature front movement during drying: fish eggs

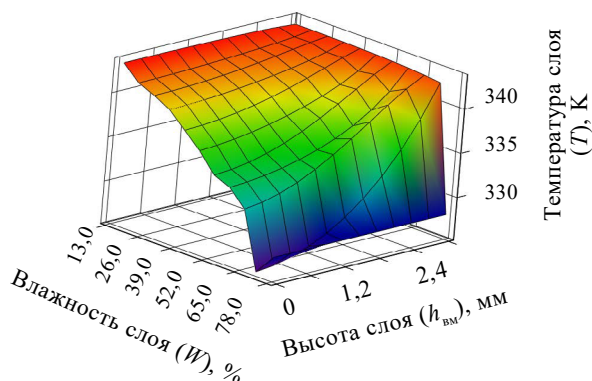


Рисунок 9. Характер продвижения фронта температуры по слою лецитинового сгустка в процессе сушки

Figure 9. Temperature front movement during drying: lecithin clot

На рисунках 8 и 9 показан характер продвижения фронта температуры по слою икорного продукта и лецитинового сгустка в процессе сушки, выявленный путем решения математической модели (3).

По результатам анализа модельных температурных зависимостей, представленных на рисунках 8 и 9, можно заключить, что при произвольной текущей влажности икорного продукта и лецитинового сгустка градиенты температуры возникают из-за инерции теплопереноса в объеме их слоев. Характер продвижения фронта температуры по слою икорного продукта и лецитинового сгустка в процессе сушки объясняется интенсивным парообразованием воды в свободном состоянии на начальном этапе влагоудаления и парниковым эффектом, возникающим ввиду повышения давления пара во временно замкнутых ячейках, которые разрушаются при формировании капиллярно-пористой структурной организации обезвоживаемой субстанции. Парообразование обуславливает отведение тепла при падении температуры образца, преимущественно в пограничном к теплоносителю слое. На графиках эта дифференциация хорошо заметна. В частности, на рисунке 9 для лецитинового сгустка данный эффект фиксируется уже в начале процесса, когда температура от глубины до середины слоя снижается на 3 К в диапазоне 324–327 К от исходного значения 328 К.

На начальном этапе обезвоживания квазижидких икорных продуктов при их взаимодействии с нагретым до $T_{г.п.}$ полотном температура пограничной прослойки возрастает, экспоненциально приближаясь к $T_{г.п.}$ и далее сравнивается с ней. На границе контакта икорных квазижидких материалов с сушильным агентом при $T_{пов.}$ и в пограничных к нему слоях первоначально присутствуют температурные скачки от исходной $T_{вм}$ до температуры мокрого термометра, соответствующей $T_{с.а.}$ и относительной влажности теплоносителя. Далее наблюдается перманентный рост $T_{вм}$. Ее температура в конечном итоге может стать идентичной $T_{с.а.}$, как это происходит в случае обезвоживания лецитинового сгустка.

Выводы

С целью совершенствования и интенсификации влагоудаления из икорного продукта и лецитинового сгустка при кондуктивно-конвективном подводе тепла выявлены рациональные режимные параметры процесса их сушки.

В качестве рациональных режимных параметров процесса сушки икорного продукта выбраны: $v_{с.а.} = 3,50$ м/с; $h_{вм} = 0,01$ м; $T_{с.а.}$ и $T_{г.п.}$ равны 313 К; $T_{вм} = 283$ К; $W_k = 0,10$ кг/кг. При таких условиях $Y = 7,610$ кг/(м²·ч), а время сушки до $W = 0,1$ кг/кг составит 9000 с.

Рациональные режимные параметры процесса сушки лецитинового сгустка: $v_{с.а.} = 2,50$ м/с; $h_{вм} = 0,003$ м; $T_{с.а.}$ и $T_{г.п.} = 313$ К; $T_{вм} = 328$ К; $W_k = 0,130$ кг/кг. При этом $Y = 13,630$ кг/(м²·ч), а время сушки до $W = 0,130$ кг/кг составит 2400 с.

Моделирование процесса сушки икорного продукта и лецитинового сгустка показало, что при рекомендованных режимных параметрах их температуры не выйдут за рамки технологических ограничений и могут быть реализованы в производственных условиях при получении лецитин-содержащих пищевых материалов.

Таким образом, с помощью моделирования процессов тепло- и массопереноса можно без привлечения экспериментов повысить точность расчета и реализовать потенциал энергосбережения при сохранении качества высушенного изделия. Выявленные кинетические закономерности, рациональные режимы обезвоживания, а также результаты моделирования процесса сушки могут применяться при проектировании процессов тепломассопереноса, а также при проектировании сушильных установок для икорного продукта и лецитинового сгустка с учетом того, что полученные данные не противоречат апробированным результатам других исследователей.

Критерии авторства

А. Х.-Х. Нугманов и С. Л. Тихонов руководили проектом, предложили методику проведения экспериментов. З. М. Арабова и Н. В. Тихонова осуществляли экспериментальные исследования, подгото-

вили рукопись. Д. М. Бородулин организовал производственные испытания, корректировал рукопись до подачи в редакцию. И. Ю. Алексанян проводил консультации в ходе исследования. П. Д. Осмоловский проводил поиск литературных источников и патентный поиск по исследуемой проблеме. Все авторы несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

A.Kh.-Kh. Nugmanov and S.L. Tikhonov supervised the project and developed the methodology. Z.M. Arabova and N.V. Tikhonova conducted the experiments and wrote the manuscript. D.M. Borodulin organized the production tests and proofread the manuscript. I.Yu. Aleksanyan provided consultations. P.D. Osmolovskiy reviewed scientific publications and patents. All authors are responsible for any potential plagiarism.

Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Coppola D, Lauritano C, Esposito FP, Riccio G, Rizzo C, *et al.* Fish waste: From problem to valuable resource. *Marine drugs*. 2021;19(2):116. <https://doi.org/10.3390/md19020116>
2. Ткаченко Т. И., Гришков М. А., Яценко М. Р. О проблемах переработки рыбных отходов при производстве рыбной кормовой муки и возможные пути их решения. *Научные труды Дальрыбвтуза*. 2023. Т. 65. № 3. С. 34–39. [Tkachenko TI, Grishkov MA, Yatsenko MR. On the problems of processing fish waste in the production of fish feed meal and possible solutions. *Scientific Journal of the Far Eastern State Technical Fisheries University*. 2023;65(3):34–39. (In Russ.)] <https://doi.org/10.48612/dalrybvtuz/2023-65-05>
3. Mohan SV, Varjani S, Pant D, Sauer M, Chang J-S. Circular bioeconomy approaches for sustainability. *Bioresource Technology*. 2020;318:124084. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124084>
4. Marcinekova L, Palatova P, Vyboštok J, Jarský V, Riedl M, *et al.* Students' perception of bioeconomy as an important factor in communicating and further development of the bioeconomy in Slovakia and the Czech Republic. *Scandinavian Journal of Forest Research*. 2023;38(4):265–274. <https://doi.org/10.1080/02827581.2023.2211806>
5. Ахметзянова Р. Р. Проблемные аспекты биоэкономики в России. *Law Afterknown: право за гранью обыденного: материалы II Междунар. молодежного юр. форума. Тюмень*, 2023. С. 333–338. [Akhmetzyanova RR. Problematic aspects of bioeconomics in Russia. *Law Afterknown: Proceedings of the II International Youth Legal Forum*. 2023;333–338. (In Russ.)]
6. Shahidi F, Vafatharajan V, Peng H, Senadheera R. Utilization of marine by-products for the recovery of value-added products. *Journal of Food Bioactives*. 2019;(6):10–61. <https://doi.org/10.31665/JFB.2019.5183>
7. Shavandi A, Hou Y, Carne A, McConnell M, Bekhit AE-D. Chapter four – Marine waste utilization as a source of functional and health compounds. *Advances in Food and Nutrition Research*. 2019;87:187–254. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2018.08.001>
8. Coppola D, Oliviero M, Vitale GA, Lauritano C, d'Ambra I, *et al.* Marine collagen from alternative and sustainable sources: Extraction, processing and applications. *Marine drugs*. 2020;18(4):214. <https://doi.org/10.3390/md18040214>
9. Arvanitoyannis IS, Kassaveti A. Fish industry waste: Treatments, environmental impacts, current and potential uses. *International Journal of Food Science and Technology*. 2008;43(4):726–745. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01513.x>
10. Филонов А. Е., Ахметов Л. И., Ветрова А. А., Иванова А. А., Сазонова О. И. и др. Современное состояние и тенденции в экологической биотехнологии. *Biologia et Biotechnologia*. 2024. № 1. С. 22–51. [Filonov AE, Akhmetov LI, Vetrova AA, Ivanova AA, Sazonova OI, *et al.* Current status and trends in environmental biotechnology. *Biologia et Biotechnologia*. 2024;(1):22–51. (In Russ.)] <https://doi.org/10.61847/pberas.bbt.2024.1.2>

11. Бодрякова Н. П., Есепенок К. В., Двинских Н. А. Экологические аспекты утилизации отходов рыбной промышленности. Актуальные вопросы зоологии, экологии и охраны природы. 2022. С. 29–35. [Bodryakova NP, Esepenok KV, Dvinskikh NA. Ecological aspects of fishery waste management. Topical Issues of Zoology, Ecology and Nature Protection. 2022;29–35. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/CLEABX>
12. Mo WY, Man YB, Wong MH. Use of food waste, fish waste and food processing waste for China's aquaculture industry: Needs and challenge. Science of The Total Environment. 2018;613–614:635–643. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.321>
13. Stevens JR, Newton RW, Tlustý M, Little DC. The rise of aquaculture by-products: Increasing food production, value, and sustainability through strategic utilization. Marine Policy. 2018;90:115–124. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.12.027>
14. Beheshti M, Parrish CC, Wells J, Taylor R, Rise M, *et al.* Minimizing marine ingredients in diets of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effects on growth performance and muscle lipid and fatty acid composition. PLOS ONE. 2018;13(9): e0198538. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198538>
15. Соколов С. А. Оценка технических, эксплуатационных и социально-экономических факторов количественного роста отходов и побочных продуктов рыбного промысла. Инновационные направления интеграции науки, образования и производства. 2023. С. 292–298. [Sokolov SA. Technical, operational, and socio-economic factors of quantitative growth of waste and by-products in fishery. Innovative directions of integration of science, education, and production. 2023;292–298. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/WIRVOB>
16. Шамсиев А. М., Крякунова Е. В. Получение кормовой муки из вторичных ресурсов рыбопереработки в условиях малого предприятия. Пищевые инновации и биотехнологии. 2021. С. 281–283. [Shamsiev AM, Kryakunova EV. Obtaining feed flour from secondary fish processing resources in a small enterprise. Food innovation and biotechnology. 2021; 281–283. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/LQGXDG>
17. Ahuja I, Daukšas E, Remme JF, Richardsen R, Løes A-K. Fish and fish waste-based fertilizers in organic farming – With status in Norway: A review. Waste Management. 2020;115:95–112. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.07.025>
18. Løes AK, Katsoulas N, Caceres R, de Cara M, Cirvilleri G, *et al.* Current use of peat, plastic and fertiliser inputs in organic horticultural and arable crops across Europe. Brussels: European Commission; 2018.
19. Wu Y, Song K. Anaerobic co-digestion of waste activated sludge and fish waste: Methane production performance and mechanism analysis. Journal of Cleaner Production. 2021;279:123678. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123678>
20. Choe U, Mustafa AM, Lin H, Xu J, Sheng K. Effect of bamboo hydrochar on anaerobic digestion of fish processing waste for biogas production. Bioresource technology. 2019;283:340–349. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.084>
21. Hou Y, Shavandi A, Carne A, Bekhit AA, Ng TB, *et al.* Marine shells: Potential opportunities for extraction of functional and health-promoting materials. Critical Reviews in Environmental Science and Technology. 2016;46(11–12):1047–1116. <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1202669>
22. Ким И. Н., Комин А. Э. Основные виды фальсификации водных биологических ресурсов. Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК–продукты здорового питания. 2021. № 2. С. 147–154. [Kim IN, Komin AE. Main types of water falsification biological resources. Technologies of the food and processing industry of the agroindustrial complex–healthy food products. 2021;(2):147–154. (In Russ.)] <https://doi.org/10.24412/2311-6447-2021-2-147-154>
23. Rustad T, Storø I, Slizyte R. Possibilities for the utilisation of marine by-products. International Journal of Food Science and Technology. 2011;46(10):2001–2014. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02736.x>
24. Arnaud C, de Lamballerie M, Pottier L. Effect of high pressure processing on the preservation of frozen and re-thawed sliced cod (*Gadus morhua*) and salmon (*Salmo salar*) fillets. High Pressure Research. 2018;38(1):62–79. <https://doi.org/10.1080/08957959.2017.1399372>
25. Никифорова А. П. Обзор методов рациональной переработки отходов рыбных производств. Комплексные исследования в рыбохозяйственной отрасли. 2021. С. 263–267. [Nikiforova AP. Methods of rational processing of fish waste: The review. Comprehensive research in the fisheries industry. 2021;263–267. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/THIISW>
26. Маркин С. Ю., Мальцев И. В. Биоконверсия отходов АПК как элемент экономики замкнутого цикла. Владимирский земледелец. 2024. № 4. С. 54–59. [Markin SYu, Maltsev IV. Bioconversion of agricultural waste as an element of the closed cycle economy. Vladimir farmer. 2024;(4):54–59. (In Russ.)] <https://doi.org/10.24412/2225-2584-2024-4110-54-59>
27. Martínez-Alvarez O, Chamorro S, Brenes A. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. Food Research International. 2015;73:204–212. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.005>
28. Singh A, Benjakul S. Proteolysis and its control using protease inhibitors in fish and fish products: A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2018;17(2):496–509. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12337>
29. Коннова О. И., Арабова З. М., Алексанян И. Ю., Нугманов А. Х.-Х., Бакин И. А. и др. Перспективы повышения эффективности процессов экстракции каротиноидов из побочных продуктов переработки биологического сырья. Современная наука и инновации. 2024. № 4. С. 152–159. [Konnova OI, Arabova ZM, Aleksanyan IYu, Nugmanov ANH, Bakin IA, *et al.* Prospects for increasing the efficiency of extraction processes of carotenoids from by-products of processing biological raw materials. Modern Science and Innovations. 2024;(4):152–159. (In Russ.)] <https://doi.org/10.37493/2307-910X.2023.4.17>

30. Арабова З. М., Нугманов А. Х.-Х., Бородулин Д. М., Алексанян И. Ю., Коннова О. И. Кинетические закономерности экстракции целевых компонентов из икорно-ястычного комплекса и его рафината. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 1. С. 74–88. [Arabova ZM, Nugmanov AKh-Kh, Borodulin DM, Aleksanyan IYu, Konnova OI. Extracting Target Components from Fresh and Refined Sac Roe: Kinetic Patterns. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(1):74–88. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-1-2555>
31. Алдаматов Н. Э., Бредихин С. А. Производство сырья животного происхождения в мире и в России. Научные труды Дальрыбвтуза. 2024. Т. 70. № 4. С. 8–19. [Aldamatov NE, Bredikhin SA. Production of raw materials of animal origin in the world and in Russia. Scientific Journal of the Far Eastern State Technical Fisheries University. 2024;70(4):8–19. (In Russ.)] <https://doi.org/10.48612/dalrybvtuz/2024-70-01>
32. Быков А. Д., Бражник С. Ю. Современное состояние промышленного рыболовства в Центральном Федеральном округе России и перспективы его развития. Вопросы рыболовства. 2024. Т. 25. № 3. С. 7–26. [Bykov AD, Brazhnik SYu. The current state of industrial fishing in the Central Federal District of Russia and prospects for its development. Fisheries Issues. 2024;25(3):7–26. (In Russ.)] <https://doi.org/10.36038/0234-2774-2024-25-3-7-26>
33. Al Solami L, Korish M. Proximate composition, fatty acid characteristics, amino acid profile and mineral content of fish *Acanthurus sohal*. Heliyon. 2024;10(16):e36474. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36474>
34. Stepanova EM, Lugovaya EA. Macro-and microelements in some species of marine life from the Sea of Okhotsk. Foods and Raw Materials. 2021;9(2):302–309. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-302-309>
35. Artar E, Olgunoglu MP, Olgunoglu IA. Mineral contents and fatty acids compositions of fillets of female and male Pangas (*Pangasius hypophthalmus*, Sauvage 1878) cultured in Turkey. Progress in Nutrition. 2022;24(3):2022056. <https://doi.org/10.23751/pn.v24i3.12382>
36. Mauer LJ. Moisture and total solids analysis. Nielsen's Food Analysis. Switzerland: Springer International Publishing; 2024. pp. 233–260. https://doi.org/10.1007/978-3-031-50643-7_15
37. Fitri N, Chan SXY, Che Lah NH, Faidruz AJ, Misnan NM, et al. A comprehensive review on the processing of dried fish and the associated chemical and nutritional changes. Foods. 2022;11(19):2938. <https://doi.org/10.3390/foods11192938>
38. Дементьева Н. В. Обоснование режимов сушки чипсов из водных биологических ресурсов. Инновационное развитие рыбной отрасли в контексте обеспечения продовольственной безопасности Российской Федерации: материалы IV Нац. науч.-техн. конф. Владивосток, 2021. С. 203–207. [Dementieva NV. Substantiation of regimes for drying chips from aquatic biological resources. Justification of the modes of drying chips from aquatic biological resources. Innovative development of the fishing industry in the context of ensuring food security of the Russian Federation: Proceeding Nat. Sci. Conf. Vladivostok, 2021. pp. 203–207. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/OXRNGU>
39. Siddiqui SA, Schulte H, Pleisner D, Schönfelder S, Kvangarsnes K, et al. Transformation of seafood side-streams and residuals into valuable products. Foods. 2023;12(2):422. <https://doi.org/10.3390/foods12020422>
40. Lebsky S, Tolok G, Ustylenko I, Kyslytsia Y. State and prospects of fish processing technologies. Scientific Journal Animal Science and Food Technologies. 2023;14(4):9–25. <https://doi.org/10.31548/animal.4.2023.09>
41. Поликарпова В. Э., Алексанян И. Ю., Арабова З. М., Нугманов А. Х.-Х., Хайбулов Р. А. и др. Кинетика конвективной сушки икры сазана как источника лецитина и решение математической модели данной операции. Вестник КрасГАУ. 2023. № 2. С. 218–227. [Polikarpova VE, Aleksanyan IYu, Arabova ZM, Nugmanov AKh-Kh, Khaibulov RA, et al. Kinetics of carp roe convective drying as a lecithin source and the solution of the mathematical model to this operation. Bulletin of KSAU. 2023;(2):218–227. (In Russ.)] <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2023-2-218-227>
42. Kirchuk R, Zabrodotskaya L, Haponiuk T, Ferents R. Experimental studies and mathematical model of the rapeseed seed drying process. National Interagency Scientific and Technical Collection of Works. Design, Production and Exploitation of Agricultural Machines. 2023;158–166. <https://doi.org/10.32515/2414-3820.2023.53.158-166>
43. Поликарпова В. Э., Алексанян И. Ю., Арабова З. М., Нугманов А. Х.-Х., Запарожец Е. Ю. Гигроскопические параметры сазаньей икры, как источника лецитина и объекта сушки, и термодинамический анализ статических закономерностей ее взаимодействия с водой. Современная наука и инновации. 2022. № 3. С. 88–96. [Polikarpova VE, Aleksanyan IYu, Arabova ZM, Nugmanov AKh-Kh, Zaporozhets EYu. Hygroscopic parameters of sazan caviar as a source of lecithin and a drying object and thermodynamic analysis of the static regularities of its interaction with water. Modern Science and Innovations. 2022;(3):88–96. (In Russ.)] <https://doi.org/10.37493/2307-910X.2022.3.8>
44. Фролов Д. И., Павлова Ю. А. Изучение кинетики сушки плодовых выжимок. Инновационная техника и технология. 2022. Т. 9. № 2. С. 42–45. [Frolov DI, Pavlova YuA. Studying the kinetics of drying fruit pomace. Innovative Machinery and Technology. 2022;9(2):42–45. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/UAXJYW>
45. Попов А. М., Плотников К. Б., Устинова Ю. В., Крюк Р. В., Плотникова И. О. Исследование кинетики сушки полидисперсных продуктов. Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2021. Т. 83. № 3. С. 30–37. [Popov AM, Plotnikov KB, Ustinova YuV, Kruk RV, Plotnikova IO. Investigation of the kinetics of drying polydisperse products. Bulletin of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2021;83(3):30–37. (In Russ.)] <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2021-3-30-37>

46. Стрельченко В. В., Нугманов А. Х.-Х., Алексанян И. Ю., Хадаев А. В., Муханбетова И. Р. Анализ кинетики процесса обезвоживания пектиновых полимерных пленок с целью оценки их сорбционных свойств. Современная наука и инновации. 2024. № 3. С. 105–113. [Strelchenko VV, Nugmanov AH-H, Aleksanyan IYu, Khadaev AV, Mukhanbetova IR. Analysis of the kinetics of the dehydration process of pectin polymer films in order to evaluate their sorption properties. Modern Science and Innovation. 2024;(3):105–113. (In Russ.)] <https://doi.org/10.37493/2307-910X.2024.3.10>
47. Загоруйко М. Г., Башмаков И. А., Степанов К. А. Исследование процесса сушки растительных отходов в изотермической модели. Сельскохозяйственные машины и технологии. 2023. Т. 17. № 4. С. 49–54. [Zagoruiko MG, Bashmakov IA, Stepanov KA. Investigation of the drying process of plant waste in an isothermal model. Agricultural machinery and technologies. 2023;17(4):49–54. (In Russ.)] <https://doi.org/10.22314/2073-7599-2023-17-4-49-54>
48. Сабуров Э. Н., Орехов А. Н., Онохин Д. А. Конвективный теплообмен на боковой поверхности рабочего объема относительно длинной циклонной камеры. Энергетика. Известия высших учебных заведений и энергетических объединений СНГ. 2016. Т. 59. № 6. С. 573–581. [Saburov EN, Orekhov AN, Onokhin DA. Convective heat transfer on the lateral surface of the working volume of a relatively long cyclone chamber. Energetika. Proceedings of CIS higher education institutions and power engineering associations. 2016;59(6):573–581. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21122/1029-7448-2016-59-6-573-581>
49. Мещерякова Г. С. Совершенствование процессов в технологии пектиносодержащего полимерного покрытия из арбузного сырья: дис. ... канд. техн. наук: 4.3.3. Москва, 2022. 179 с. [Meshcheryakova GS. Improvement of processes in the technology of pectin-containing polymer coating from watermelon raw materials: Diss. Cand. Sci. Eng.: 4.3.3. Moscow, 2022. 179 p. (In Russ.)]
50. Алексанян И. Ю. Развитие научных основ процессов высокоинтенсивной сушки продуктов животного и растительного происхождения: дис. ... д-ра. техн. наук: 05.18.12. Астрахань, 2001. 52 с. [Aleksanyan IYu. Development of scientific foundations of high-intensity drying processes for animal and vegetable products: Diss. Dr. Sci. Eng.: 05.18.12. Astrakhan, 2001. 52 p. (In Russ.)]
51. Максименко Ю. А. Развитие научно-практических основ и совершенствование процессов сушки растительного сырья в диспергированном состоянии: дис. ... д-ра. техн. наук: 05.18.12. Астрахань, 2016. 502 с. [Maksimenko YuA. Development of scientific and practical foundations and improvement of drying processes of plant raw materials in a dispersed state: Diss. Dr. Sci. Eng.: 05.18.12. Astrakhan, 2016. 502 p. (In Russ.)]
52. Способ получения яичного лецитина 05.21-19P1.270П / РЖ 19P-1. Химия и технология пищевых продуктов. 2005. № 21. [Method of obtaining egg lecithin 05.21-19P1.270P / RJ 19P-1. Chemistry and technology of food products. 2005;(21).]
53. Арапов В. М., Арапов М. В., Мамонтов М. В. К вопросу выбора тепловых режимов сушки термолабильных продуктов. Вестник Гомельского государственного технического университета им. П. О. Сухого. 2006. № 3. С. 8–14. [Arapov VM, Arapov MV, Mamontov MV. On the issue of selecting drying temperature regimes for thermo-labile products. Bulletin of Sukhoi State Technical University of Gomel. 2006;(3):8–14. (In Russ.)]
54. Демидов И. Н., Крамаренко А. А. Способы получения фосфолипидных продуктов. Вопросы химии и химической технологии. 2008. Т. 2. С. 58–63. [Demidov IN, Kramarenko AA. Methods for obtaining phospholipid products. Issues of chemistry and chemical technology. 2008;2:58–63. (In Russ.)]
55. Поликарпова В. Э., Алексанян И. Ю., Арабова З. М., Нугманов А. Х.-Х., Эльмурзаев А. А. Определение тепло-технических показателей икры сазана как объекта замораживания и источника лецитина. Индустрия питания. 2022. Т. 7. № 4. С. 25–35. [Polikarpova VE, Aleksanian IYu, Arabova ZM, Nugmanov AH-H, Elmurzaev AA. Thermal parameters measurement of carp caviar as a freeze object and a lecithin source. Food Industry. 2022;7(4):25–35. (In Russ.)] <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2022-7-4-3>
56. Чугаев Р. Р. Гидравлика (техническая механика жидкости). 4-е изд., испр. и доп. Ленингр.: Энергоиздат; 1982. 671 с. [Chugaev RR. Hydraulics (Technical fluid mechanics). 4th ed. Leningrad: Energoizdat; 1982. 671 p. (In Russ.)]
57. Плановский А. Н., Рамм В. М., Каган С. З. Процессы и аппараты химической технологии. 5-е изд., стер. М: Химия; 1968. 847 с. [Planovsky AN, Ramm VM, Kagan SZ. Processes and devices of chemical technology. 5th ed. Moscow: Himiya; 1968. 847 p. (In Russ.)]

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2585>
<https://elibrary.ru/HPHUPK>

Обзорная статья
<https://fptt.ru>

Микроводоросли *Scenedesmus* как источник пигментов и других биологически активных метаболитов: перспективы и проблемы применения



А. А. Чинова^{ID}, О. О. Бабич^{*ID}, Е. В. Каширских^{ID},
Е. А. Буденкова^{ID}, Л. С. Дышлюк^{ID}

Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта^{ROR}, Калининград, Россия

Поступила в редакцию: 31.03.2025

Принята после рецензирования: 03.06.2025

Принята к публикации: 01.07.2025

*О. О. Бабич: olich.43@mail.ru,

<http://orcid.org/0000-0002-4921-8997>

А. А. Чинова: <https://orcid.org/0000-0002-3875-8437>

Е. В. Каширских: <http://orcid.org/0000-0003-0442-5471>

Е. А. Буденкова: <https://orcid.org/0000-0003-4854-5459>

Л. С. Дышлюк: <https://orcid.org/0000-0002-7333-8411>

© А. А. Чинова, О. О. Бабич, Е. В. Каширских, Е. А. Буденкова,
Л. С. Дышлюк, 2025



Аннотация.

Пищевые красители улучшают органолептические свойства продуктов, что повышает их привлекательность для потребителей. Однако использование синтетических красителей ассоциируется с потенциальными рисками для здоровья. В последние годы внимание исследователей привлекают натуральные пигменты микроводорослей (*Scenedesmus*), которые обеспечивают интенсивную окраску и обладают выраженной биологической активностью, включая хлорофиллы и каротиноиды. Цель обзора – систематизировать актуальную информацию о пигментном составе микроводорослей *Scenedesmus*; рассмотреть современные стратегии культивирования, обеспечивающие эффективный биосинтез их клетками пигментов; оценить перспективность использования пигментов *Scenedesmus* в качестве функциональных компонентов в пищевой и нутрицевтической промышленности; проанализировать текущие ограничения, препятствующие масштабированию производства пигментов на основе микроводорослей.

Объекты исследования – научные публикации, посвященные изучению пигментов микроводорослей *Scenedesmus*, их биоактивных свойств и / или практического применения. Поиск научной литературы проводился за период 2015–2025 гг. с использованием международных баз данных: ScienceDirect (Scopus), Springer Link, MDPI и Google Scholar. Проведен отбор публикаций, извлечение и анализ данных.

Результаты исследования показывают, что микроводоросли *Scenedesmus* накапливают значительное количество хлорофиллов (до 30,8 мг/г) и каротиноидов (до 98,0 мг/г). Каротиноидный профиль *Scenedesmus* характеризуется разнообразием соединений, среди которых коммерческое значение имеют лютеин (содержание до 10,7 мг/г), β -каротин (до 19,0 мг/г) и астаксантин (до 23,8 мг/г). Современные исследования демонстрируют широкий спектр биологической активности каротиноидных экстрактов *Scenedesmus*, включая противомикробное, антипролиферативное, гиполипидемическое и противодиабетическое действие. Благодаря этому пигменты *Scenedesmus* перспективны для применения в производстве функциональных продуктов питания и нутрицевтиков. Также рассмотрены различные стратегии культивирования, направленные на увеличение выхода пигментов в биомассе *Scenedesmus*. Выявлен ряд факторов, препятствующих успешной коммерциализации *Scenedesmus* для получения пигментов: значительная вариабельность состава пигментов в зависимости от штамма и условий культивирования, технические и экономические сложности масштабирования процессов культивирования и экстракции пигментов. Дальнейшие исследования необходимо фокусировать на комплексной оценке безопасности и биодоступности пигментов *Scenedesmus*, а также на разработке и оптимизации технологий промышленного культивирования *Scenedesmus* и эффективного извлечения целевых пигментов из биомассы.

Ключевые слова. Микроводоросли, *Scenedesmus*, натуральные красители, биоактивные соединения, антиоксиданты, каротиноиды, хлорофилл, ксантофиллы, лютеин, β -каротин

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2024-672 от 18.09.2024).

Для цитирования: Чинова А. А., Бабич О. О., Каширских Е. В., Буденкова Е. А., Дышлюк Л. С. Микроводоросли *Scenedesmus* как источник пигментов и других биологически активных метаболитов: перспективы и проблемы применения. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 468–484. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2585>

Microalgae *Scenedesmus* as a Source of Pigments and Other Biologically Active Metabolites: Application Prospects and Problems



Alena A. Chizhova^{ORCID}, Olga O. Babich^{*ORCID}, Egor V. Kashirskikh^{ORCID},
Ekaterina A. Budenkova^{ORCID}, Lyubov S. Dyshlyuk^{ORCID}

Immanuel Kant Baltic Federal University^{ROR}, Kaliningrad, Russia

Received: 31.03.2025

Revised: 03.06.2025

Accepted: 01.07.2025

*Olga O. Babich: olich.43@mail.ru,

<http://orcid.org/0000-0002-4921-8997>

Alena A. Chizhova: <https://orcid.org/0000-0002-3875-8437>

Egor V. Kashirskikh: <http://orcid.org/0000-0003-0442-5471>

Ekaterina A. Budenkova: <https://orcid.org/0000-0003-4854-5459>

Lyubov S. Dyshlyuk: <https://orcid.org/0000-0002-7333-8411>

© A.A. Chizhova, O.O. Babich, E.V. Kashirskikh, E.A. Budenkova,
L.S. Dyshlyuk, 2025



Abstract.

Food dyes are widely used in the food industry to improve the sensory properties and consumer attractiveness of finished products. However, synthetic dyes are associated with potential health risks. Microalgae are known to produce natural pigments that provide intense coloring and possess various biological metabolites, e.g., chlorophylls and carotenoids. This article reviews available data on the pigment composition of *Scenedesmus* microalgae, including cultivation strategies, efficient pigment biosynthesis, prospects for the functional food and nutraceutical industries, and commercial limitations.

The review covered scientific publications on *Scenedesmus* colorants, their bioactive properties, and / or practical application registered in ScienceDirect (Scopus), Springer Link, MDPI, and Google Scholar in 2015–2025.

Scenedesmus microalgae accumulate significant amounts of chlorophylls (≤ 30.8 mg/g) and carotenoids (≤ 98.0 mg/g). The carotenoid profile of *Scenedesmus* consists of a variety of compounds, with such commercially important substances as lutein (≤ 10.7 mg/g), β -carotene (≤ 19.0 mg/g), and astaxanthin (≤ 23.8 mg/g). *Scenedesmus* carotenoid extracts possess antimicrobial, antiproliferative, hypolipidemic, and antidiabetic properties. As a result, *Scenedesmus* pigments are promising components to be used in functional foods and nutraceuticals. Various cultivation strategies aim at increasing the pigment yield in *Scenedesmus* biomass. Two factors hinder the successful commercialization of *Scenedesmus* for pigment production: 1) pigment composition depends on the strain and cultivation conditions; 2) large-scale pigment cultivation and extraction are technically and economically complex.

Further research is required to assess the safety and bioavailability of *Scenedesmus* pigments, as well as to improve industrial cultivation and extraction technologies.

Keywords. Cultivation microalgae, *Scenedesmus*, natural colorants, bioactive compounds, antioxidants, carotenoids, chlorophyll, xanthophylls, lutein, β -carotene

Funding. The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (agreement No. 075-15-2024-672, September 18, 2024).

For citation: Chizhova AA, Babich OO, Kashirskikh EV, Budenkova EA, Dyshlyuk LS. Microalgae *Scenedesmus* as a Source of Pigments and Other Biologically Active Metabolites: Application Prospects and Problems. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):468–484. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2585>

Введение

В настоящее время потребители проявляют повышенный интерес к здоровому питанию и безопасности пищи, отдавая предпочтение натуральным и экологически чистым продуктам, обогащенным функциональными компонентами. Данная тенденция привела к сдвигу интереса рынка в сторону натуральных компо-

нентов в составе продуктов питания и добавок к пище. Вместе с тем цвет продуктов питания в значительной степени определяет выбор потребителя, поскольку воспринимается как индикатор свежести, вкуса и качества. Для улучшения органолептических свойств продуктов широко применяются синтетические и натуральные пищевые красители. Они позволяют придать окраску

бесцветным продуктам, усилить или скорректировать их исходный цвет, а также обеспечить равномерность окрашивания по всему объему продукта [1–3].

Натуральные красители – это молекулы природного происхождения, получаемые из разнообразных источников, таких как растения, животные, насекомые, минералы или микроорганизмы. В последние годы они стали популярной альтернативой синтетическим пищевым красителям, поскольку эти вещества ассоциируются с негативными последствиями для здоровья, включая канцерогенность, токсичность и аллергенность [4, 5]. Примерами натуральных красителей на рынке являются пигменты плесени *Monascus*, β -каротин из *Blakeslea trispora* и рибофлавин из *Ashbya gossypii* [6]. Помимо красящих свойств, натуральные красители демонстрируют множество положительных эффектов для здоровья, включая антиоксидантные, противовоспалительные, антипролиферативные, противомикробные и противовирусные свойства. Например, каротиноид астаксантин обладает мощным антиоксидантным действием, проявляющимся в способности удалять свободные радикалы, нейтрализовать синглетный кислород, стимулировать выработку антиоксидантного фермента параксоназы-1, повышать концентрацию глутатиона, а также предотвращать перекисное окисление липидов [6]. Исследования *in vitro* и *in vivo* продемонстрировали безопасность зеаксантина и его широкий спектр фармакологического действия [7]. Несмотря на очевидные преимущества и многофункциональность, использование натуральных красителей сопряжено с рядом технологических проблем, в частности с низким содержанием пигментов в сырье, сложностью их извлечения, недостаточной устойчивостью к внешним условиям (например, изменения pH, воздействие тепла, света или ионов металлов), а также наличием примесей, которые могут придавать продуктам неприятный вкус или запах [5].

С экономической точки зрения морские ресурсы и микроорганизмы представляются наиболее перспективными источниками для получения природных красителей в будущем. Микроводоросли – это фотосинтезирующие микроорганизмы, которые служат источником многих ценных соединений. К ним относятся белки, содержащие незаменимые аминокислоты, липиды с полиненасыщенными жирными кислотами, полисахариды, витамины и фенольные соединения [8–16]. Большой интерес вызывают пигменты микроводорослей благодаря их красящим свойствам и биологической активности. Пигменты микроводорослей представляют собой вторичные метаболиты, синтезируемые в составе фотосинтетической системы для обеспечения процессов фотосинтеза и фотозащиты. Они подразделяются на три основные группы: фикобилипротеины, хлорофиллы и каротиноиды. По сравнению с другими природными источниками пигментов, микроводоросли обладают рядом существенных преимуществ: не требуют использования пахотных земель, эффек-

тивно поглощают атмосферный CO_2 , демонстрируют высокую продуктивность биомассы и пигментов, обладают способностью адаптироваться к изменяющимся условиям среды [17]. Культивирование микроводорослей в закрытых фотобиореакторах с контролируемыми условиями может обеспечивать получение пигментов с постоянными физико-химическими и биологическими свойствами круглогодично. На сегодняшний день изучено более 30 тыс. видов микроводорослей, однако лишь немногие из них нашли применение в промышленном производстве пигментов. В коммерческих масштабах используются преимущественно такие виды, как *Arthrospira platensis* для получения фикоцианина, *Dunaliella salina* для производства каротиноидов, а также *Haematococcus pluvialis* и *Xanthophyllomyces dendrorhous* как источники астаксантина [18–20].

Scenedesmus – род зеленых микроводорослей, которые широко встречаются в пресных и солоноватых водах, а также наземных средах. Микроводоросли *Scenedesmus* являются перспективными для использования в различных областях, ввиду ряда полезных характеристик. Они способны легко адаптироваться к стрессовым условиям окружающей среды, характеризуются высокой скоростью роста и простотой выращивания. В этой связи виды *Scenedesmus* активно исследуются на предмет использования в производстве биотоплива, синтезе биологически активных соединений и биоремедиации сточных вод [21]. Особый интерес вызывает способность микроводорослей *Scenedesmus* синтезировать хлорофиллы и каротиноиды. Представители *Scenedesmus* накапливают промышленно значимый лютеин, астаксантин, β -каротин и кантаксантин. Так, *Scenedesmus almeriensis* активно используется для крупномасштабного производства лютеина [4, 15, 22]. Однако доступная информация о пигментном составе *Scenedesmus* и практическом использовании данных биоактивных метаболитов является фрагментарной и разрозненной.

Цель обзора – систематизировать актуальную информацию о пигментном составе микроводорослей *Scenedesmus*, рассмотреть современные стратегии культивирования, обеспечивающие эффективный биосинтез пигментов клетками *Scenedesmus*; оценить перспективность использования пигментов *Scenedesmus* в качестве функциональных компонентов в пищевой и нутрицевтической промышленности; проанализировать текущие ограничения, препятствующие масштабированию производства пигментов на основе микроводорослей.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования – научные публикации на тему изучения пигментов микроводорослей *Scenedesmus*, их биоактивных свойств и / или практического применения. Поиск публикаций осуществлялся на английском языке с применением международных баз данных ScienceDirect (Scopus), Springer Link, MDPI и Google Scholar. В ходе поиска использовались следующие

щие ключевые слова и словосочетания: микроводоросли (microalgae), пигменты (pigments), *Scenedesmus*, пищевой краситель (food colorant), культивирование (cultivation), питательная среда (nutrition medium), стресс (stress), дефицит питательных веществ (nutrient deficiency), каротиноиды (carotenoids), хлорофиллы (chlorophylls), биологическая активность (bioactivity).

Отбор публикаций проводился на основе следующих критериев: исследовательские или обзорные статьи типа Article и Review, опубликованные в период с 2015 по 2025 г.; публикации содержат описания искусственного культивирования микроводорослей для получения пигментов и / или повышения их содержания в биомассе; содержат информацию о биологической активности пигментов микроводорослей и их применении. Статьи, соответствующие критериям включения, были отобраны для последующего извлечения и анализа данных.

Результаты и их обсуждение

Исследования показали, что микроводоросли рода *Scenedesmus* являются богатым источником хлорофиллов и каротиноидов [23, 24].

Хлорофиллы – класс зеленых пигментов, накапливающихся в водорослях и высших растениях. Они относятся к группе порфириновых соединений и включают хлорофиллы а–f, а также их производные. В среднем микроводоросли содержат 0,5–1,0 % хлорофиллов от сухой массы. Данные молекулы участвуют в поглощении световой энергии, которая впоследствии используется в фотохимических реакциях во время световой фазы фотосинтеза, а также для синтеза АТФ и поддержания восстановительной способности. Хлорофилл а является основным компонентом светособирающего пигментного белкового комплекса микроводорослей и играет решающую роль в фотосинтезе. Снижение его уровня приводит к угнетению процесса фотосинтеза и замедлению роста организмов. Кроме того, хлорофилл принимает участие в синтезе других пигментов, например каротиноидов, выступая в качестве промежуточного звена в процессе их синтеза. Структурные особенности хлорофилла и его производных обеспечивают их способность действовать как антиоксиданты, противомикробные и противовоспалительные агенты, средства для профилактики рака и антимутагенные соединения [4, 25].

В профиле хлорофиллов *Scenedesmus* (табл.) доминируют хлорофиллы а и b. Согласно исследованию Vendruscolo *et al.* [26], при культивировании штамма *Scenedesmus obliquus* CPCC05 в условиях с различными концентрациями CO₂ на долю хлорофилла а приходится до 80 % от общего содержания всех хлорофиллов. В составе *S. obliquus* также были идентифицированы производные хлорофилла а и b, феофитин а, хлорофилл b. Эти соединения играют важную роль в фотосинтетическом процессе и адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды. При этом максимальная

концентрация хлорофиллов наблюдалась при воздействии 25 % CO₂ и составила 30,8 мг/г. С другой стороны, мутантный штамм *S. obliquus* SO120G, полученный путем облучения тяжелыми ионами дикого штамма *S. obliquus* FACHB-416, продемонстрировал увеличенное содержание хлорофилла а – 5,25 % от сухой массы, что превышало показатели дикого типа [27]. У штамма *Scenedesmus acuminatus*, напротив, содержание хлорофилла а и хлорофилла b в условиях азотного голодания было ниже: 1,17 и 0,97 мг/г соответственно [28].

Каротиноиды являются вспомогательными пигментами желтого, оранжевого и красного цветов. По своей химической структуре они подразделяются на каротины (α -каротин, β -каротин, ликопин и торулен) и ксантофиллы (лютеин, зеаксантин, β -криптоксантин, астаксантин и фукоксантин). В биологических системах каротиноиды выполняют различные функции, выступая в роли вспомогательных светособирающих пигментов и эндогенных антиоксидантов. За счет наличия сопряженных двойных связей в химической структуре каротиноиды проявляют значительную антиоксидантную активность, способствуя снижению уровня реактивных форм кислорода и предотвращая разрушение фотосинтетического комплекса [18, 29]. Биологически активные свойства натуральных каротиноидов делают их ценными компонентами в производстве пищевых добавок, косметики и фармацевтических препаратов. Их использование не только придает продуктам привлекательные оттенки, но и обеспечивает дополнительные преимущества для здоровья [19].

К 2029 г. мировой рынок каротиноидов вырастет до 2,9 млрд долларов. При этом около 60 % общего объема рынка каротиноидов приходится на β -каротин, астаксантин и лютеин [30]. β -каротин широко применяется для улучшения внешнего вида продуктов питания, например кондитерских изделий и безалкогольных напитков, а также в кормовых добавках для животных, рыб и ракообразных. Сообщается о положительном воздействии β -каротина на работу сердечно-сосудистой системы за счет его кардиопротекторных свойств, а также о защитном действии против развития злокачественных новообразований [4, 31]. Астаксантин активно применяется в нутрицевтической, косметической, пищевой и фармацевтической промышленности. Соединение известно своей противораковой, противодиабетической, кардиопротекторной, противовоспалительной и антиоксидантной активностью. Несмотря на это, коммерческое применение астаксантина в производстве пищевых продуктов требует дополнительных исследований стабильности, консервации, инкапсуляции и хранения [17]. Лютеин, применяемый в качестве красителя в кормах и продуктах питания, демонстрирует кардиопротекторное, антиоксидантное и противовоспалительное действие [32]. Текущее промышленное получение лютеина в основном осуществляется из растений бархатцев (*Tagetes erecta* L. и *Tagetes patula* L.) или календулы (*Calendula*

officinalis L.), что требует больших земельных площадей и ограничено сезоном. Высокая скорость роста, возможность культивирования в биореакторных системах или открытых прудах, а также независимость от сезонных, климатических и земельных ограничений, характерных для выращивания бархатцев или календулы, делают микроводоросли перспективным сырьем для коммерческого производства лютеина [33].

В профиле каротиноидов представителей рода *Scenedesmus* преобладающими соединениями являются лютеин и β -каротин [34, 35]. Штамм *Scenedesmus* sp. B2-2, культивируемый в уличном биореакторе при температуре 10 °C и освещенности 500 мкмоль/(м²·с), накапливал 15,3 мг/г каротиноидов, из которых 10,7 мг/г составлял лютеин и 2,6 мг/г – β -каротин [36]. Схожие результаты были получены Fernandes *et al.* [37], где основными каротиноидами *Scenedesmus bijuga* UTEX2980 были лютеин и β -каротин, содержание которых составляло до 44,0 и 13,8 % от общего количества каротиноидов (1,19 мг/г). В результате фотоавтотрофного культивирования культуры *Scenedesmus* sp. SVMICT1 в условиях освещенности 50 мкЕ/(м²·с) был зафиксирован повышенный выход лютеина – 1,43 мг/г и β -каротина – 0,15 мг/г [38]. Продуктивность по лютеину в миксотрофной культуре *Scenedesmus* sp. CAS-173 может достигать 3,59 мг/л в сутки [39]. Продуктивность лютеина у *S. bijugus* MF069190 на среде BBM с повышенным содержанием фосфатов (20 мкМ) и солевым стрессом (50 мМ NaCl) была ниже и составила 0,08 мг/л в сутки [40]. Схожие результаты были получены для гетеротрофной культуры *S. obliquus* ABC-009, которая продемонстрировала продуктивность лютеина на уровне 1,00 мг/л в сутки [41].

Каротиноидные фракции микроводорослей *Scenedesmus* характеризуются значительным содержанием ксантофиллов (табл.). Например, концентрация ксантофиллов в этанольном экстракте *S. obliquus* CPCC05 достигала 2,02 мг/г при общем уровне каротиноидов 2,64 мг/г. Всего у *S. obliquus* идентифицировано тринадцать различных каротиноидов, среди которых преобладающими соединениями стали лютеин (1,33 мг/г) и β -каротин (0,41 мг/г). Кроме того, в экстракте идентифицированы изомеры лютеина и неоксантина, неоксантин, виолаксантин, лютеоксантин, зеаксантин, изомеры β -каротина и α -каротина [42]. Исследование изолята *Scenedesmus quadricauda* PUMCC 4.1.40. показало, что при оптимальных условиях культивирования (среда Chu-10; pH 8,5; 30 °C; 20 мМ нитрата; 0,22 мМ фосфатов; 0,42 мМ NaCl и синий свет) содержание каротиноидов в штамме достигало 98 мг/г сухой биомассы. Хроматографический анализ выявил присутствие астаксантина (23,8 мг/г), β -каротина (19,0 мг/г), лютеина (6,5 мг/г) и кантаксантина (4,0 мг/г). Особо ценным является высокое содержание астаксантина и β -каротина, что делает этот штамм перспективным сырьем для коммерческого производства указанных пигментов [43]. Богатый состав ксантофиллов обнару-

жен в изоляте *Scenedesmus* sp., который был выделен из термального пресноводного источника в Северном Тунисе. При воздействии умеренного солевого стресса (10 г/л NaCl) на штамм наблюдалось максимальное содержание хлорофилла а (25,03 мкг/мл экстракта), хлорофилла b (42,55 мкг/мл экстракта) и каротиноидов (3295,84 мкг/мл экстракта). Анализ ВЭЖХ-МС подтвердил, что экстракт *Scenedesmus* sp. накапливает разнообразные ксантофиллы, среди которых идентифицированы лютеин, виолаксантин, неоксантин, производные зеаксантина и β -криптоксантина, зеиноксантин, лютеоксантин и антероксантин [44]. Миксотрофная культура *Scenedesmus* spp. НХУ5 характеризовалась высоким выходом пигментов (18,45 мг/л), среди которых преобладал лютеин (11,46 мг/л). В составе пигментов также были обнаружены фукоксантин (0,031 мг/л), неолутеин (0,053 мг/л) и виолаксантин (0,327 мг/л). Кроме того, были обнаружены хлорофиллы а (1,88 мг/л) и b (4,69 мг/л). Yuan *et al.* отмечают, что штамм *Scenedesmus* sp. НХУ5 характеризуется высоким выходом лютеина и может применяться для производства данного пигмента [45].

Анализ литературных данных указывает на значительный биотехнологический потенциал микроводорослей *Scenedesmus* в качестве источника ценных пигментов. В зависимости от штамма и условий культивирования, водоросли *Scenedesmus* могут накапливать до 30,00 мг/г хлорофиллов и 98,00 мг/г каротиноидов. Представители рода также характеризуются богатым профилем ксантофиллов, среди которых доминирует лютеин (до 10,70 мг/г). Способность отдельных штаммов синтезировать астаксантин (до 23,80 мг/г) и β -каротин (до 19,00 мг/г) представляет особую ценность, учитывая высокий коммерческий спрос на эти соединения в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности.

Факторы, воздействующие на накопление пигментов в *Scenedesmus*. Растущий спрос на биомассу микроводорослей для производства биотоплива, пищевых добавок и фармацевтических препаратов требует разработки экономически эффективных технологий их культивирования. Ключевым аспектом является управление условиями выращивания, которые напрямую влияют на содержание фотосинтетических пигментов в хлоропластах [20]. Особый интерес в этом контексте представляют микроводоросли *Scenedesmus*, способные адаптироваться к различным стрессовым условиям окружающей среды, таким как доступность питательных веществ, интенсивность света, засоление, высокие уровни углекислого газа (CO₂) и присутствие сточных вод [21, 47, 48].

Питательные вещества. Важным условием для эффективного производства биомассы и фотосинтетических пигментов является оптимизация параметров питания. Управление составом питательных сред позволяет направленно изменять метаболизм микроводорослей, усиливая синтез целевых пигментов (например,

Продолжение таблицы

Штамм	Пигменты	Содержание пигментов	Метод экстракции / анализа	Влияние условий культивирования	Ссылка
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	Хлорофилл а Хлорофилл b Каротиноиды	до 9,58 мг/г до 5,24 мг/г до 4,50 мг/г	Экстракция 90 % ацетоном / Спектрофотометрия	Внесение моксифлоксасина подавляет фотосинтетическую активность	[46]
<i>Scenedesmus</i> spp. НХУ1, НХУ2, НХУ4, НХУ5 и НХУ6	Хлорофилл а Хлорофилл b Ксантофиллы (фукоксантин, неолютеин, виолаксантин, лютеин)	до 4,69 мг/л биомассы до 1,88 мг/л биомассы до 11,90 мг/л биомассы	Ультразвуковая экстракция и мацерация с ацетоном / ВЭЖХ	Увеличение выхода лютеина при выращивании на сточных водах картофельного производства	[45]
<i>Scenedesmus</i> sp.	Хлорофилл а Хлорофилл b Каротиноиды: • Каротины (производное α -каротина) • Ксантофиллы (лютеин, виолаксантин, неоксантин, производные зеаксантина и β -криптоксантина, зеиноксантин, виолаксантин, лютеоксантин, антероксантин)	до 25,03 мкг/мл экстракта до 42,55 мкг/мл экстракта до 3295,84 мкг/мл экстракта – –	Экстракция ацетоном / Спектрофотометрия, ВЭЖХ и ВЭЖХ-МС	Умеренное засоление (10 г/л NaCl) стимулирует накопление хлорофиллов и каротинов	[44]
<i>Scenedesmus</i> sp. B2-2	Хлорофилл а Хлорофилл b Каротиноиды: • Каротины (β -каротин) • Ксантофиллы (неоксантин, виолаксантин, антераксантин, лютеин)	до 34,70 мг/г до 35,60 мг/г до 15,30 мг/г до 3,67 мг/г до 12,70 мг/г	Экстракция метанолом при 70 °С / ВЭЖХ	Повышенная освещенность (500 мкмоль/м ² ·с) и холодовой стресс (10 °С) стимулируют накопление каротиноидов	[36]
<i>Scenedesmus</i> sp. SVMПСТ1	Каротины (β -каротин) Ксантофиллы (лютеин)	до 0,15 мг/г до 1,43 мг/г	Ультразвуковая экстракция с тетрагидрофураном и дихлорметаном / ЖХ-МС	Белый свет интенсивностью 50 и 500 мкЕ/ м ² ·с способствует накоплению лютеина и β -каротина	[38]

Примечание: ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография, ВЭЖХ-МС – высокоэффективная жидкостная хромато-масс-спектрометрия, ЖХ-МС – жидкостная хроматография / масс-спектрометрия, ВЭТСХ – высокоэффективная тонкослойная хроматография.

Note: ВЭЖХ – high-performance liquid chromatography, ВЭЖХ-МС – liquid chromatography-mass spectrometry, ЖХ-МС – mass spectrometry, ВЭТСХ – high-performance thin-layer chromatography.

лютеина, астаксантина или β -каротина) без значительного ущерба для накопления биомассы [15, 49]. Исследована способность штамма *Scenedesmus obliquus* FACHB 416 синтезировать лютеин при использовании различных источников азота (NaNO_3 , NH_4Cl , $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) в режиме двухступенчатого культивирования в конических колбах объемом 250 мл. После ежедневного добавления 1 мг/л $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ наблюдалось максимальное содержание лютеина на уровне 11,3 мг/л. Исследователи отметили характерную закономерность: для всех трех форм азота содержание лютеина сначала возрастало с увеличением концентрации азота, достигало максимума при концентрации 1 мг/л, а затем снижалось при дальнейшем повышении концентрации источника азота. Тип источника азота оказывал незначительное влияние на биосинтез лютеина данным штаммом [50]. Erdoğan *et al.* [51], напротив, утверждают, что нитрит натрия (NaNO_2) является оптимальным источником азота для накопления пигментов в культуре *S. obliquus* EGEMACC-18. При выращивании штамма на среде BBM с добавлением NaNO_2 в фотобиореакторе был получен максимальный выход лороксантина и лютеина, который составил 5,46 и 11,08 мг/г соответственно.

В то же время недостаток азота в питательной среде приводит к снижению синтеза хлорофиллов в клетках микроводорослей, поскольку этот элемент необходим для их формирования. При этом возникающий ферментативный дисбаланс способствует накоплению каротиноидов (включая лютеин и астаксантин) и липидов [52]. В ходе двухэтапного культивирования *Scenedesmus vacuolatus* в условиях азотного голодания на среде Chu-10 было зафиксировано значительное повышение концентрации кантаксантина (до 36,8 мг/г) и β -каротина (до 4,1 мг/г). Астаксантин вырабатывался исключительно в условиях недостатка азота, а его содержание составило 2,3 мг/г [53]. Исследование продукции липидов и фотосинтетических пигментов мутантного штамма *S. obliquus* SO120G в фотобиореакторе на среде BG-11 с различным содержанием азота показало, что при дефиците азота синтез хлорофилла а снижался до 2,15 % по сравнению с 5,25 %, наблюдаемыми в среде с высоким содержанием азота. Вместе с тем дефицит азота приводил к значительному увеличению содержания каротиноидов, достигающему 2,85 %, что подчеркивает их роль в защите клеток от стрессовых условий [27]. Lin *et al.* [54] обнаружили снижение общего содержания каротиноидов (до 5,8 мг/г) при культивировании штамма *Scenedesmus abundans* GH-D11 в условиях азотного голодания по сравнению с контрольной средой BG-11, где содержание каротиноидов составило 9,3 мг/г.

Для поддержания метаболизма и размножения микроводорослей могут использоваться органические (глюкоза, патока, ацетат натрия и глицерин) и неорганические (CO_2 , NaHCO_3) источники углерода. Ацетат натрия является недорогим источником органического углерода для миксотрофного выращивания

микроводорослей. Культивирование *S. obliquus* в среде BG-11 объемом 150 мл с добавлением 10 мг/л ацетата натрия позволило повысить эффективность фотосинтеза и продуктивность по биомассе. Внесение экзогенного ацетата натрия увеличило активность фотосистемы I, а также повысило общее содержание хлорофиллов и каротиноидов до 7,10 и 2,59 мкг/мл соответственно [55]. Добавление бикарбоната натрия (4–20 мМ) в среду BG-11 в качестве источника неорганического углерода способствовало накоплению хлорофиллов (а и b) и каротиноидов в штамме *Scenedesmus* sp. BHU1. Максимальная концентрация хлорофилла а была достигнута при добавлении 12 мМ бикарбоната натрия в рабочий объем среды, равный 100 мл. Она составила 8,32 мкг/мл, что в 1,5 раза превышало показатель контрольной группы. Увеличение концентрации каротиноидов было прямо пропорционально внесенной концентрации бикарбоната натрия и достигло наибольшего значения (3,24 мкг/мл) при 20 мМ бикарбоната натрия [23].

Свет. Также на рост микроводорослей влияют условия освещения: интенсивность света, его спектральный состав и продолжительность фотопериода. В рамках исследования [56] было изучено влияние уровня pH и светового режима на накопление биомассы, липидов и пигментов у микроводоросли *S. obtusus* ON089666. Согласно полученным результатам, оптимальные показатели содержания пигментов были зафиксированы при выращивании микроводоросли в среде с уровнем pH 8 при белом освещении и фотопериоде 16:8 ч. При таких условиях концентрация хлорофилла а составила 7,56 мкг/мл, хлорофилла b – 4,08 мкг/мл, каротиноидов – 1,78 мкг/мл, а суммарное содержание хлорофиллов – 11,64 мкг/мл [56]. Рассмотрено влияние спектрального состава света на рост и биохимический состав биомассы дикого штамма *S. vacuolatus* и его мутанта, устойчивого к дихлорфенилдиметилмочевине. При всех типах светового излучения мутантный штамм продемонстрировал более высокие показатели роста, содержания клеточных компонентов и органического углерода по сравнению с диким штаммом. Сниженная продуктивность дикого штамма может быть связана с повышенным нефотохимическим тушением, что указывает на большую потерю поглощенной фотоэнергии в клетках дикого типа. Обнаружены видовые различия в синтезе пигментов при различном освещении. Таким образом, максимальной продукцией хлорофилла (22,02 мкг/мл) и каротиноидов (4,00 мкг/мл) дикий штамм достигал при зеленом освещении. Мутантный штамм показал наибольшую продуктивность пигментов (35,9 мкг/мл хлорофиллов и 5,1 мкг/мл каротиноидов) при оранжевом освещении [57]. При выращивании штамма *S. obliquus* M2-1 в круглых колбах при сине-красном свете (40:60 %) интенсивностью 200 ммоль/м² была достигнута повышенная продуктивность по каротиноидам и неоксантину, которая составила 2,31 и 1,97 мг/л в сутки соответственно [58].

Солевой стресс. Одним из распространенных стрессовых факторов для пресноводных микроводорослей в естественной среде является высокий уровень засоления. Засоление может привести к снижению скорости роста клеток и процесса фотосинтеза, а также вызвать морфологические изменения в микроводорослях. В то же время солевой стресс способствует увеличению накопления каротиноидов в клетках микроводорослей, которые действуют как антиоксиданты, защищая микроводоросли от окислительного повреждения и повышая их выживаемость [59]. Выращивание изолята *Scenedesmus* sp. на среде MDM (100 мл) с включением 10 г/л NaCl обеспечивает оптимальную продуктивность по биомассе и стимулирует накопление каротиноидов и хлорофиллов. В ходе других исследований было установлено, что *Scenedesmus almeriensis* способен адаптироваться к условиям с низким и средним уровнем солёности (от 0 до 5 г/л NaCl). При концентрации соли 5 г/л *S. almeriensis* имел максимальную продуктивность биомассы и содержание лютеина [44]. Сочетание солевого стресса с различными методами обработки также может способствовать накоплению каротиноидов в клетках микроводорослей. Например, повышенная освещенность (150 ммоль/м²·с) и засоление (NaCl 156 ммоль/л) стимулировали продукцию лютеина у штамма *Scenedesmus* sp. FSP3 при его культивировании в фотобиореакторе. Концентрация лютеина достигала 6,45 мг/г с продуктивностью 2,30 мг/л в сутки [60]. Схожие результаты были получены в работе, где исследовалось влияние экзогенных стимуляторов (солёность, интенсивность света, их комбинации, дефицит азота) на продукцию липидов и каротиноидов в штамме *Scenedesmus rubescens* KNUA042. Культивирование проводилось в 100 мл среды BG-11 в течение 14 дней. При комбинированном воздействии солёности (400 мМ NaCl) и повышенной интенсивности света (1000 мкмоль/м²·с) наблюдалось максимальное содержание каротиноидов (6,94 мг/л), кантаксантина (1,73 мг/г) и астаксантина (1,11 мг/г) среди всех обработок. Однако содержание лютеина и хлорофилла а уменьшалось в процессе культивирования при всех видах обработки [57].

Культивирование в сточных водах. Одним из способов снижения стоимости производства продуктов на основе микроводорослей является использование сточных вод, которые служат источником питательных веществ или выступают в роли стрессового фактора [61]. Крупномасштабное культивирование *Scenedesmus* sp. UKM9 в анаэробных стоках производства пальмового масла при освещении 190 мкмоль/м²·с привело к увеличению продукции пигментов в биомассе. Максимальное содержание хлорофилла а (9,99 мг/г) было зафиксировано в первом поколении (стационарная фаза), а хлорофилла b (3,01 мг/г) – в четвертом поколении (экспоненциальная фаза). Каротиноиды достигли пика в первом поколении (5,73 мг/г). Предполагалось, что избыток питательных веществ в сточных водах

и свет вызвали стресс, что привело к образованию реактивных форм кислорода и синтезу каротиноидов для защиты клеток. После нормализации фотосинтеза улучшилось светопоглощение, что дополнительно стимулировало накопление каротиноидов. Использование стоков производства пальмового масла может стать эффективной стратегией получения хлорофилла и каротиноидов из *Scenedesmus* sp. UKM9 [62]. Devi et al. [63] подчеркивали возможность применения муниципальных сточных вод для миксотрофного и гетеротрофного культивирования *Scenedesmus* sp. DDVG I в биореакторе объемом 3 л. Миксотрофная культура демонстрировала повышенную продуктивность по биомассе, выходу липидов и хлорофилла а. Содержание хлорофилла а значительно увеличилось с 0,56 до 9,90 мг/л в течение десятидневного периода культивирования.

Вместе с тем токсичные соединения в отходах часто подавляют рост микроводорослей, однако отдельные виды проявляют устойчивость, что позволяет использовать их для биоремедиации с одновременным получением ценных продуктов. Например, штамм *Scenedesmus dimorphus* ITISM-DIX1, выделенный из реки в Дханбаде (Индия), показал повышенное содержание хлорофиллов и каротиноидов при культивировании в искусственных сточных водах с включением парацетамола в концентрации 7 ppm (рабочий объем 150 мл). Однако более высокие дозы парацетамола ингибировали синтез пигментов. Эффективность удаления антибиотика варьировалась в диапазоне от 40 до 100 % в зависимости от его концентрации. Это подтверждает потенциал микроводоросли в очистке фармацевтических стоков [64]. Активные исследования микроводорослей для одновременной очистки сточных вод и получения ценных продуктов контрастируют с недостаточной изученностью безопасности их применения в пищевой промышленности. Как следствие, внимание также следует уделить физическим, химическим и биологическим рискам, содержащимся в биомассе микроводорослей [65].

Содержание CO₂. Газовый состав культуральной среды оказывает влияние на выход липидов, углеводов и пигментов из клеток микроводорослей. Кроме того, параллельно с увеличением выхода целевых соединений клетки микроводорослей секвестрируют CO₂. Chauhan et al. проверили 13 штаммов микроводорослей на устойчивость к дымовым газам CO₂, NO_x и SO_x. Выбранные штаммы подвергали ступенчатой адаптации к газам и в результате при культивировании *Scenedesmus acutus* NCIM5584 и *S. abundans* NCIM2897 наблюдалось увеличение продукции каротиноидов (около 3 и 1 мкг/мл соответственно) и снижение общего количества хлорофилла a+b (около 9 и 4 мкг/мл соответственно). Среди всех штаммов максимальное накопление каротиноидов было обнаружено у *S. acutus* NCIM5584, включая как контроль (среда BG-11; 2,6 мкг/мл), так и экспериментальную группу (2,8 мкг/мл) [66]. Увеличение содержания каро-

тиноидов может быть связано с защитным ответом клеток на окислительный стресс от токсичных компонентов газов [67]. В исследовании [68] оптимальная концентрация углекислого газа (CO_2) для роста и накопления фотосинтетических пигментов *S. obliquus* в среде с экстрактами шлама сточных вод составила 30 % (рабочий объем 500 мл). Накопление фотосинтетических пигментов во время выращивания могло достигать 31,74 мг/л, а органическая токсичность экстракта шлама была снижена на 44,97 %. Снижение токсичности шлама и повышение толерантности к высоким уровням CO_2 обусловлено повышенной регуляцией фотосинтетических белков A0A383VSL5, A0A383WMQ3 и A0A2Z4THB7 у *S. obliquus*.

Оптимизация условий культивирования открывает возможности для улучшения биосинтеза пигментов в микроводорослях *Scenedesmus*. Однако большинство исследований проводится в лабораторных масштабах, что существенно затрудняет оценку эффективности предлагаемых стратегий в промышленных условиях. Молекулярные механизмы регуляции биосинтеза пигментов при различных стрессовых воздействиях также остаются недостаточно изученными, что ограничивает возможности целенаправленного управления метаболизмом микроводорослей.

Перспективы применения *Scenedesmus* в нутрицевтике и пищевой промышленности. Нутрицевтики – функциональные продукты питания и диетические добавки, обладающие полезными свойствами для организма человека. Мировой рынок нутрицевтиков активно развивается и достигнет 868 млрд долларов к 2031 г. Основной причиной такого стремительного роста является увеличение числа хронических заболеваний, связанных с образом жизни, таких как ожирение, диабет, сердечно-сосудистые заболевания и др. [69, 70].

В настоящее время лишь несколько видов микроводорослей (например, *Botryococcus braunii*, *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis*) известны своим антиоксидантным и антибактериальным потенциалом. В этой связи актуальным становится поиск новых видов водорослей как устойчивых и экологических источников функциональных компонентов [71].

Недавние исследования показали, что экстракты из микроводорослей *Scenedesmus* обладают мощным антиоксидантным действием [71], а также демонстрируют противомикробные [72] и противораковые [73] свойства (рис.).

Микроводоросль *S. obliquus* NCM № 5586 является перспективным источником фармакологически активных каротиноидов. Исследования *in vitro* продемонстрировали выраженный антипролиферативный эффект каротиноидных фракций *S. obliquus*, в составе которых присутствуют астаксантин и β -каротин. При воздействии на клеточную линию гепатокарциномы HUH7 максимальный уровень гибели клеток достигал 84,9 % при концентрации каротиноидов 4000 мкг/л, среднее ингибирующее значение концентрации составило 1481 мкг/мл [74]. Экстракт каротиноидов (100 мкг/мл), полученный из биомассы штамма *S. vacuolatus*, выращенного в условиях азотного стресса, проявил сильную антиоксидантную активность против радикала DPPH (64,8 %), которая была сравнима с активностью аскорбиновой кислоты (88,9 %). При проведении исследований *in vitro* данный экстракт продемонстрировал противоопухолевые свойства, снижая жизнеспособность клеток рака шейки матки человека (HeLa) на 53 % и клеток рака толстой кишки (HT-29) на 49 % [53]. Выявлена антимикробная активность метанольных экстрактов *Scenedesmus* sp. UKM9 в отношении широкого спектра



Рисунок. Биологически активные свойства экстрактов *Scenedesmus* sp., богатых каротиноидами

Figure. Bioactive properties of *Scenedesmus* sp. extracts with high carotenoid concentration

грамположительных и грамотрицательных бактерий: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, метициллин-резистентного *S. aureus*, *Shigella sonnei*, *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* и *Bacillus cereus* [75].

Включение экстрактов каротиноидов *Scenedesmus* sp. в состав продуктов способствует обогащению их биологически активными веществами и предотвращает окислительную деградацию компонентов. Так, внесение экстракта *S. almeriensis* в концентрации 0,1 мг/мл в состав оливкового масла способствовало повышению его окислительной стабильности на 37,8 %, а также значительно увеличивало содержание β -каротина (в 4,4–11,1 раз) и лютеина (на 0,1 мг/мл) по сравнению с контрольным образцом. Образцы экстрактов *S. almeriensis* характеризовались высоким содержанием β -каротина (13,30 %), лютеина (0,25 %) и других каротиноидов (1,00 %). Эти соединения придавали обогащенному оливковому маслу оранжево-красный оттенок и одновременно улучшали его качественные показатели, в частности снижали перекисное число и замедляли образование продуктов окисления. Важно отметить, что добавление экстрактов не влияло на жирнокислотный профиль и содержание токоферолов в масле, сохраняя его исходные свойства [76].

S. obliquus является перспективным компонентом для разработки функциональных продуктов питания и нутрицевтиков, направленных на профилактику диабета и дислипидемий. Биомасса *S. obliquus* богата белком (40,40 %), пищевыми волокнами (19,40 %), фенольными соединениями (1,90 %), каротиноидами (1,10 %), хлорофиллами (1,35 %), олеиновой (1,38 %), линолевой (0,95 %) и линоленовой (0,28 %) кислотами [77]. Ацетоновые экстракты *S. obliquus*, богатые каротиноидами и фенольными соединениями, демонстрировали высокую антиоксидантную активность с ингибирующей способностью DPPH > 90 %. Исследования *in vivo* показали, что введение *S. obliquus* в диету самцов крыс Wistar способствовало снижению содержания триглицеридов на 70 %, индекса атерогенности до 80 % и концентрации глюкозы в сыворотке на 42 %. Диета на основе *S. obliquus* не оказывала отрицательного влияния на печень и почки животных, а также характеризовалась хорошей усвояемостью (более 75 %) [77].

Разработан шоколадный хрустящий батончик с использованием инкапсулированного сублимированного штамма *S. obliquus* TISTR 8522. Внесение микрокапсул на основе альгината натрия и устойчивого крахмала с 5 % содержанием лиофилизированной биомассы *S. obliquus* обогащало продукт незаменимыми аминокислотами (лейцин, лизин, треонин), полиненасыщенными жирными кислотами (α -линоленовая кислота – 50,91 %, цис-9,12-линолевая кислота – 12,03 %, цис-9-олеиновая кислота – 10,71 %), хлорофиллами (10,54 мг/г) и каротиноидами (1,60 мг/г). Разработанный функциональный шоколадный батончик обладал

приемлемыми сенсорными характеристиками, хотя некоторые эксперты обнаружили слабый рыбный запах. Общая оценка вкуса и текстуры продукта была положительной. Все это указывает на потенциал использования *S. obliquus* для создания функциональных пищевых продуктов с повышенной биологической ценностью [78].

С другой стороны, do Nascimento *et al.* [79] сравнили биодоступность каротиноидов *S. obliquus* в трех формах: сухой биомассе, влажной биомассе после ультразвуковой обработки и изолированном экстракте. Наилучшую биодоступность в модели пищеварения *in vitro* продемонстрировал экстракт, основными соединениями которого являлись транс- β -каротин (506,0 мкг/г) и транс-лютеин (317,0 мкг/г). Также экстракт содержал уникальные каротиноиды транс-эхиненон (94,0 мкг/г) и транс-кантаксантин (3,1 мкг/г). Самыми биодоступными соединениями оказались транс-кантаксантин (99 %) и 15-цис-лютеин (74 %). В клетках Caco-2 преимущественно накапливались транс- β -крококсантин (17,34 %) и транс-эхиненон (7,55 %). Исследование подтвердило, что экстракция значительно повышает биодоступность каротиноидов из микроводоросли *S. obliquus*. Тем не менее, исследования биодоступности полного спектра пигментов микроводорослей *Scenedesmus* остаются недостаточными, что создает существенный пробел в научном понимании их потенциала для пищевой промышленности [79].

Несмотря на растущий интерес к использованию микроводорослей в функциональных продуктах питания, при разработке пищевой продукции на их основе критически важно учитывать вопросы усвояемости и биодоступности, присутствия загрязняющих веществ (таких как тяжелые металлы, пестициды), аллергенности и потенциальной токсичности биомассы [80, 81]. Хотя водоросли *Scenedesmus* демонстрируют значительный потенциал как источник пигментов, до сих пор недостаточно изучены процессы всасывания в желудочно-кишечном тракте и механизмы действия их пигментов на метаболическом уровне. Будущие исследования должны сосредоточиться на комплексном изучении биодоступности, усвояемости и безопасности пигментов *Scenedesmus* для обеспечения их эффективного применения в пищевой промышленности и нутрицевтике.

Ограничения, связанные с применением микроводорослей. Микроводоросли являются перспективным источником биологически активных соединений, включая пигменты. Однако их промышленное применение сталкивается с существенными препятствиями: высокой себестоимостью производства, низкой концентрацией целевых соединений в биомассе, дорогостоящими процессами сбора биомассы, экстракции и очистки целевых компонентов [82].

Низкая производительность штаммов микроводорослей серьезно ограничивает их коммерциализацию. Обнаружение и идентификация штаммов с высокой скоростью роста и продуктивностью метаболитов

имеет решающее значение для преодоления этих ограничений. Создание высокопродуктивных штаммов посредством генной инженерии также может решить данную проблему. Например, встраивание синтетического гена фитоинсинтазы в штамм *Scenedesmus* sp. CPC2 позволило значительно повысить его продуктивность по β -каротину. При экспрессии экзогенного гена в рекомбинантном штамме содержание β -каротина достигало 15,5 мг/г или 21,8 мг/л на питательной среде TAP, что на 50 % превышает показатели штамма дикого типа. Вместе с тем строгие нормативные акты ограничивают широкое применение генетически модифицированных штаммов микроводорослей [83, 84]. Процессы выращивания биомассы также требуют высоких эксплуатационных расходов из-за необходимости поддержания стерильности культур, использования дорогостоящего оборудования и привлечения квалифицированных специалистов. Оптимизация биосинтеза и крупномасштабного производства пигментов микроводорослей осложняется недостаточной изученностью их метаболического аппарата. Будущие исследования должны быть направлены на разработку эффективных фотобиореакторных систем и режимов культивирования микроводорослей с учетом особенностей их метаболизма, что позволит обеспечить массовое производство чистой биомассы [15, 85].

Переработка биомассы микроводорослей включает дорогостоящие этапы экстракции, изоляции и очистки продукта. Подготовительный процесс обезвоживания биомассы особенно затратен и составляет до 35 % совокупной себестоимости. При этом жесткие клеточные стенки микроводорослей усложняют извлечение биоактивных веществ. Современные технологии экстракции, включающие воздействие импульсным электрическим полем, ультразвуком, микроволнами, сверхкритическими жидкостями и высоковольтными разрядами на клетки, успешно разрушают клеточные мембраны с минимальным воздействием на целевые соединения. Они не обеспечивают полного извлечения и требуют оптимизации параметров.

Дополнительной проблемой является низкая стабильность извлеченных соединений, в частности, фикобилипротеины и хлорофиллы чувствительны к pH, свету и температуре, что ухудшает их характеристики по сравнению с синтетическими аналогами [86]. В этой связи инкапсуляция соединений может стать важным инструментом для преодоления низкой стабильности и биодоступности, а также плохой растворимости биоактивных веществ микроводорослей. Процесс инкапсуляции доказал свою эффективность для повышения стабильности при хранении, улучшения биодоступности, контроля высвобождения соединений и усиления терапевтического эффекта по сравнению со свободной формой. Многие исследователи изучали возможности инкапсуляции соединений микроводорослей для пищевой промышленности. Например, успешно разработаны подходы к получению фукоксантина из *Phaeodac-*

tylum tricornutum, инкапсулированного в наночастицы, что обеспечило повышение биодоступности по сравнению с порошком микроводоросли как в условиях моделирования пищеварения *in vitro*, так и при фармакокинетическом анализе *in vivo* [87].

Качество продуктов на основе микроводорослей является еще одним ограничивающим фактором. Фармацевтические свойства соединений микроводорослей, их биодоступность и усвояемость остаются недостаточно изученными. Без всесторонних данных доклинических и клинических испытаний на людях их безопасность и польза для здоровья остаются на уровне теории. Более того, потенциальные синергические и антагонистические взаимодействия между различными биоактивными соединениями, полученными из микроводорослей, остаются в значительной степени неизученными [79, 85, 86].

Выводы

Микроводоросли служат ценным источником натуральных пигментов, таких как каротиноиды, хлорофиллы и фикобилипротеины. Эти соединения обладают не только красящими свойствами, но и широким спектром биологической активности, что делает их востребованными в пищевой, фармацевтической и косметической отраслях. Особый интерес представляют микроводоросли рода *Scenedesmus* как источник хлорофиллов и каротиноидов. Проведенный анализ данных подтверждает, что представители *Scenedesmus* накапливают значительное количество коммерчески значимых каротиноидов: лютеина, β -каротина и астаксантина. Каротиноидные фракции *Scenedesmus* демонстрируют выраженную антиоксидантную активность, а также противомикробное, антипролиферативное, противодиабетическое и гиполипидемическое действие. Включение их экстрактов в пищевые продукты позволяет не только обогатить состав продукта биологически активными веществами, но и предотвратить окислительную деградацию компонентов, пролонгируя срок хранения. Благодаря этим характеристикам *Scenedesmus* перспективен для разработки функциональных продуктов питания и нутрицевтиков.

Тем не менее, использование микроводорослей *Scenedesmus* в качестве источника пигментов имеет ряд ограничений. Прежде всего, состав и концентрация пигментов значительно варьируются в зависимости от штамма и условий культивирования (например, освещенности или доступности питательных веществ), что затрудняет стандартизацию производства пигментов. Кроме того, большинство исследований по выращиванию *Scenedesmus* проводятся в лабораторных условиях, а масштабирование процессов для промышленного применения остается экономически и технически сложной задачей. Отдельной проблемой является отсутствие данных о безопасности и биодоступности полного спектра пигментов *Scenedesmus*, что создает существенный пробел в научном понимании их потенциала

для пищевой промышленности. Для преодоления указанных барьеров будущие исследования должны быть направлены на комплексный анализ усвояемости, безопасности и эффективности пигментов *Scenedesmus*, а также на разработку и оптимизацию технологий крупномасштабного культивирования микроводорослей *Scenedesmus* и извлечения пигментов.

Критерии авторства

А. А. Чижова: исследование, подготовка первоначального черновика статьи. О. О. Бабич: концептуализация, администрирование проекта. Е. В. Каширских: методология, рецензирование и редактирование статьи. Е. А. Буденкова: визуализация, подготовка первоначального черновика. Л. С. Дышлюк: рецензирование и редактирование статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

A.A. Chizhova performed the research and drafted the manuscript. O.O. Babich developed the research concept and supervised the project. E.V. Kashirskikh designed the methodology and reviewed the manuscript. E.A. Budenkova provided the visualization and drafted the manuscript. L.S. Dyshlyuk reviewed and proofread the manuscript.

Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Rodríguez-Mena A, Ochoa-Martínez LA, González-Herrera SM, Rutiaga-Quinones OM, González-Laredo RF, et al. Natural pigments of plant origin: Classification, extraction and application in foods. Food Chemistry. 2023;398:133908. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133908>
2. Cao K, Cui Y, Sun F, Zhang H, Fan J, et al. Metabolic engineering and synthetic biology strategies for producing high-value natural pigments in Microalgae. Biotechnology Advances. 2023;68:108236. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108236>
3. Gao L, Qin Y, Zhou X, Jin W, He Z, et al. Microalgae as future food: Rich nutrients, safety, production costs and environmental effects. Science of The Total Environment. 2024;927:172167. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172167>
4. Sun H, Wang Y, He Y, Liu B, Mou H, et al. Microalgae-derived pigments for the food industry. Marine Drugs. 2023;(2):82. <https://doi.org/10.3390/md21020082>
5. Thomsen PT, Nielsen SR, Borodina I. Recent advances in engineering microorganisms for the production of natural food colorants. Current Opinion in Chemical Biology. 2024;81:102477. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2024.102477>
6. Li N, Wang Q, Zhou J, Li S, Liu J, et al. Insight into the progress on natural dyes: Sources, structural features, health effects, challenges, and potential. Molecules. 2022;27(10):3291. <https://doi.org/10.3390/molecules27103291>
7. Bouyahya A, El Omari N, Hakkur M, El Hachlafi N, Charfi S, et al. Sources, health benefits, and biological properties of zeaxanthin. Trends in Food Science & Technology. 2021;118(Part A):519–538. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.017>
8. Andreeva A, Budenkova E, Babich O, Sukhikh S, Ulrikh E, et al. Production, purification, and study of the amino acid composition of microalgae proteins. Molecules. 2021;26(9):2767. <https://doi.org/10.3390/molecules26092767>
9. Andreeva A, Budenkova E, Babich O, Sukhikh S, Dolganyuk V, et al. Influence of carbohydrate additives on the growth rate of microalgae biomass with an increased carbohydrate content. Marine Drugs. 2021;19(7):381. <https://doi.org/10.3390/md19070381>
10. Dolganyuk V, Andreeva A, Budenkova E, Sukhikh S, Babich O, et al. Study of morphological features and determination of the fatty acid composition of the microalgae lipid complex. Biomolecules. 2020;10(11):1571. <https://doi.org/10.3390/biom10111571>
11. Sukhikh S, Ivanova S, Dolganyuk V, Pilevinova I, Prosekov A, et al. Evaluation of the prospects for the use of microalgae in functional bread production. Applied Sciences. 2022;12(24):12563. <https://doi.org/10.3390/app122412563>
12. Shevel'yuhina A, Babich O, Sukhikh S, Ivanova S, Kashirskikh E, et al. Antioxidant and antimicrobial activity of microalgae of the Filinskaya Bay (Baltic Sea). Plants. 2022;11(17):2264. <https://doi.org/10.3390/plants11172264>
13. Sukhikh S, Prosekov A, Ivanova S, Maslennikov P, Andreeva A, et al. Identification of metabolites with antibacterial activities by analyzing the FTIR spectra of microalgae. Life. 2022;12(9):1395. <https://doi.org/10.3390/life12091395>
14. Dolganyuk V, Andreeva A, Sukhikh S, Kashirskikh E, Prosekov A, et al. Study of the physicochemical and biological properties of the lipid complex of marine microalgae isolated from the coastal areas of the eastern water area of the Baltic Sea. Molecules. 2022;27(18):5871. <https://doi.org/10.3390/molecules27185871>
15. Srivastava A, Kalwani M, Chakdar H, Pabbi S, Shukla P. Biosynthesis and biotechnological interventions for commercial production of microalgal pigments: A review. Bioresource Technology. 2022;352:127071. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127071>

16. Долганюк В. Ф., Ульрих Е. В., Сухих С. А., Каширских Е. В., Кремлева О. Е. и др. Скрининг и характеристика антиоксидантных свойств психрофильных микроводорослей и цианобактерий Балтийского моря. Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 212–221. [Dolganyuk VF, Sukhikh SA, Kashirskih EV, Ulrikh EV, Kremleva OE, *et al.* Screening and profiling the antioxidant properties of psychrophilic microalgae and cyanobacteria from the Baltic Sea. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):212–221. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2501>
17. Kumar S, Kumar R, Diksha, Kumari A, Panwar A. Astaxanthin: A super antioxidant from microalgae and its therapeutic potential. Journal of Basic Microbiology. 2022;62(9):1064–1082. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100391>
18. Mutař-Kılıç T, Demir A, Elibol M, Oncel SS. Microalgae pigments as a sustainable approach to textile dyeing: A critical review. Algal Research. 2023;76:103291. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103291>
19. Razzak SA. Comprehensive overview of microalgae-derived carotenoids and their applications in diverse industries. Algal Research. 2024;78:103422. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103422>
20. Chan SS, Lee SY, Ling TC, Chae KJ, *et al.* Unlocking the potential of food waste as a nutrient goldmine for microalgae cultivation: A review. Journal of Cleaner Production. 2025;492:144753. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2025.144753>
21. Rajamanickam R, Selvasembian R. Mechanistic insights into the potential application of *Scenedesmus* strains towards the elimination of antibiotics from wastewater. Bioresource Technology. 2024;410:131289. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131289>
22. Goshtasbi H, Okolodkov YB, Movafeghi A, Awale S, Safary A, *et al.* Harnessing microalgae as sustainable cellular factories for biopharmaceutical production. Algal Research. 2023;74:103237. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103237>
23. Singh RP, Yadav P, Kumar A, Hashem A, Al-Arjani A-BA, *et al.* Physiological and biochemical responses of bicarbonate supplementation on biomass and lipid content of green algae *Scenedesmus* sp. BHU1 isolated from wastewater for renewable biofuel feedstock. Frontiers in Microbiology. 2022;13:839800. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.839800>
24. Khatiwada JR, Madsen C, Warwick C, Shrestha S, Chio C, *et al.* Interaction between polyethylene terephthalate (PET) microplastic and microalgae (*Scenedesmus* spp.): Effect on the growth, chlorophyll content, and hetero-aggregation. Environmental Advances. 2023;13:100399. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2023.100399>
25. Sun D, Wu S, Li X, Ge B, Zhou C, *et al.* The structure, functions and potential medicinal effects of chlorophylls derived from microalgae. Marine Drugs. 2024;22(2):65. <https://doi.org/10.3390/md22020065>
26. Vendruscolo RG, Deprá MC, Pinheiro PN, Furlan VJM, Barin JS, *et al.* Food potential of *Scenedesmus obliquus* biomasses obtained from photosynthetic cultivations associated with carbon dioxide mitigation. Food Research International. 2022;160:111590. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111590>
27. Xi Y, Yin L, Chi ZY, Luo G. Characterization and RNA-seq transcriptomic analysis of a *Scenedesmus obliquus* mutant with enhanced photosynthesis efficiency and lipid productivity. Scientific Reports. 2021;11:11795. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88954-6>
28. Zhang Y, Wu H, Yuan C, Li T, Li A. Growth, biochemical composition, and photosynthetic performance of *Scenedesmus acuminatus* during nitrogen starvation and resupply. Journal of Applied Phycology. 2019;31:2797–2809. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01783-z>
29. Angeles R, Carvalho J, Hernández-Martínez I, Morales-Ibarria M, Fradinho JC, *et al.* Harnessing Nature's palette: Exploring photosynthetic pigments for sustainable biotechnology. New Biotechnology. 2025;85:84–102. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2025.01.001>
30. Zafar J, Aqeel A, Shah FI, Ehsan N, Gohar UF, *et al.* Biochemical and immunological implications of lutein and zeaxanthin. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(20):10910. <https://doi.org/10.3390/ijms222010910>
31. Bas TG. Bioactivity and bioavailability of carotenoids applied in human health: Technological advances and innovation. International Journal of Molecular Sciences. 2024;25(14):7603. <https://doi.org/10.3390/ijms25147603>
32. Su Y, Chen F, Chen J, Wang M. An overview of potential cardioprotective benefits of xanthophylls in atherosclerosis: An evidence-based review. Food Science and Human Wellness. 2024;13(4):1739–1755. <https://doi.org/10.26599/FSHW.2022.9250147>
33. Xie Y, Xiong X, Chen S. Challenges and potential in increasing lutein content in microalgae. Microorganisms. 2021;9(5):1068. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051068>
34. Vendruscolo RG, Fernandes AS, Fagundes MB, Zepka LQ, de Menezes CR, *et al.* Development of a new method for simultaneous extraction of chlorophylls and carotenoids from microalgal biomass. Journal of Applied Phycology. 2021;33:1987–1997. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02470-8>
35. Maroneze MM, Caballero-Guerrero B, Zepka LQ, Jacob-Lopes E, Perez-Galvez A, *et al.* Accomplished high-resolution metabolomic and molecular studies identify new carotenoid biosynthetic reactions in cyanobacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2020;68(22):6212–6220. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01306>
36. León-Vaz A, León R, Vigara J, Funk C. Exploring Nordic microalgae as a potential novel source of antioxidant and bioactive compounds. New Biotechnology. 2023;73:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2022.12.001>
37. Fernandes AS, Petry FC, Mercadante AZ, Jacob-Lopes E, Zepka LQ. HPLC-PDA-MS/MS as a strategy to characterize and quantify natural pigments from microalgae. Current Research in Food Science. 2020;3:100–112. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2020.03.009>

38. Kona R, Pallerla P, Addipilli R, Sripadi P, Mohan SV. Lutein and β -carotene biosynthesis in *Scenedesmus* sp. SVMIICT1 through differential light intensities. *Bioresource Technology*. 2021;341:125814. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125814>
39. Lakshmi Devi R, Gandhi NN, Muthukumar K. Enhanced biomass and lutein production by mixotrophic cultivation of *Scenedesmus* sp. using crude glycerol in an airlift photobioreactor. *Biochemical Engineering Journal*. 2020;161:107684. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107684>
40. Minhas AK, Barrow CJ, Hodgson P, Adholeya A. Microalga *Scenedesmus bijugus*: Biomass, lipid profile, and carotenoids production *in vitro*. *Biomass and Bioenergy*. 2020;142:105749. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105749>
41. Koh HG, Jeong YT, Lee B, Chang YK. Light stress after heterotrophic cultivation enhances lutein and biofuel production from a novel algal strain *Scenedesmus obliquus* ABC-009. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2022;32(3):378–386. <https://doi.org/10.4014/jmb.2108.08021>
42. Fernandes AS, Caetano PA, Jacob-Lopes E, Zepka LQ, de Rosso VV. Alternative green solvents associated with ultrasound-assisted extraction: A green chemistry approach for the extraction of carotenoids and chlorophylls from microalgae. *Food Chemistry*. 2024;455:139939. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139939>
43. Rajput A, Singh DP, Khattar JS, Swatch GK, Singh Y. Evaluation of growth and carotenoid production by a green microalga *Scenedesmus quadricauda* PUMCC 4.1.40. under optimized culture conditions. *Journal of Basic Microbiology*. 2022;62(9):1156–1166. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100285>
44. Elloumi W, Jebali A, Maalej A, Chamkha M, Sayadi S. Effect of mild salinity stress on the growth, fatty acid and carotenoid compositions, and biological activities of the thermal freshwater microalgae *Scenedesmus* sp. *Biomolecules*. 2020;10(11):1515. <https://doi.org/10.3390/biom10111515>
45. Yuan S, Ye S, Yang S, Luo G. Purification of potato wastewater and production of byproducts using microalgae *Scenedesmus* and *Desmodesmus*. *Journal of Water Process Engineering*. 2021;43:102237. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102237>
46. Li Z, Gao X, Bao J, Li S, Wang X, et al. Evaluation of growth and antioxidant responses of freshwater microalgae *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus dimorphus* under exposure of moxifloxacin. *Science of the Total Environment*. 2023;858(Part 1):159788. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159788>
47. Maru M, Zewge F, Kifle D, Sahle-Demissie E. Biodesalination of brackish water coupled with lipid production using native *Scenedesmus* sp. isolated from a saline lake in Ethiopia, Lake Basaka. *Desalination and Water Treatment*. 2022;266:39–48. <https://doi.org/10.5004/dwt.2022.28618>
48. Pandey A, Srivastava S, Kumar S. Carbon dioxide fixation and lipid storage of *Scenedesmus* sp. ASK22: A sustainable approach for biofuel production and waste remediation. *Journal of Environmental Management*. 2023;332:117350. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.117350>
49. Kadri MS, Singhania RR, Anisha GS, Gohil N, Singh V, et al. Microalgal lutein: Advancements in production, extraction, market potential, and applications. *Bioresource Technology*. 2023;389:129808. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129808>
50. An M, Gao L, Zhao W, Chen W, Li M. Effects of nitrogen forms and supply mode on lipid production of microalga *Scenedesmus obliquus*. *Energies*. 2020;13(3):697. <https://doi.org/10.3390/en13030697>
51. Erdoğan A, Karataş AB, Demir D, Demirel Z, Aktürk M, et al. Comprehensive analysis of lutein and luteoxanthin in *Scenedesmus obliquus*: From quantification to isolation. *Molecules*. 2024;29(6):1228. <https://doi.org/10.3390/molecules29061228>
52. Corrêa PS, Freitas MM, Caetano NS. High-value compounds in three freshwater green microalgae using nitrogen as an abiotic stressor: A study of the antioxidant potential of ethanolic extracts. *Algal Research*. 2025;86:103964. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2025.103964>
53. Unni AC, Karunakaran K. Therapeutic potential of microalga *Scenedesmus vacuolatus*: *In vitro* evaluation of antioxidant and anticancer activities. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*. 2025;41(1):53. <https://doi.org/10.1007/s41208-025-00809-3>
54. Lin Y-S, Yuwono W, Wang H-Y. Lipid induction in *Scenedesmus abundans* GH-D11 by reusing the volatile fatty acids in the effluent of dark anaerobic fermentation of biohydrogen. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2020;191:258–272. <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03294-x>
55. Cheng J, Fan W, Zheng L. Development of a mixotrophic cultivation strategy for simultaneous improvement of biomass and photosynthetic efficiency in freshwater microalga *Scenedesmus obliquus* by adding appropriate concentration of sodium acetate. *Biochemical Engineering Journal*. 2021;176:108177. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108177>
56. Vinitha V, Meignanalakshmi S, Tirumurugan KG, Sarathchandra G, Sundaram SM. Enhanced lipid production and analysis of properties of biodiesel produced from freshwater microalgae *Scenedesmus obtusus* ON089666.1. *Bioresource Technology Reports*. 2023;21:101286. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101286>
57. Gupta N, Khare P, Singh DP. Effect of spectral quality of light on growth and cell constituents of the wild-type (WT) and DCMU-tolerant strain of microalga *Scenedesmus vacuolatus*. *Energy, Ecology and Environment*. 2019;4:175–188. <https://doi.org/10.1007/s40974-019-00124-7>
58. Pagels F, Amaro HM, Tavares TG, Casal S, Malcata FX, et al. Effects of irradiance of red and blue:red LEDs on *Scenedesmus obliquus* M2-1 optimization of biomass and high added-value compounds. *Journal of Applied Phycology*. 2021;33:1379–1388. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02412-4>

59. Ren Y, Sun H, Deng J, Huang J, Chen F. Carotenoid production from microalgae: Biosynthesis, salinity responses and novel biotechnologies. *Marine Drugs*. 2021;19(12):713. <https://doi.org/10.3390/md19120713>
60. Li J, Zhao X, Chang J-S, Miao X. A two-stage culture strategy for *Scenedesmus* sp. FSP3 for CO₂ fixation and the simultaneous production of lutein under light and salt stress. *Molecules*. 2022;27(21):7497. <https://doi.org/10.3390/molecules27217497>
61. Palanisami S. Blended wastewater as a source of nutrients and biosynthetic elicitors for microalgal biorefinery. *Green Technologies and Sustainability*. 2024;2(3):100098. <https://doi.org/10.1016/j.grets.2024.100098>
62. Japar AS, Takriff MS, Yasin NHM. Microalgae acclimatization in industrial wastewater and its effect on growth and primary metabolite composition. *Algal Research*. 2021;53:102163. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102163>
63. Devi ND, Sun X, Ding L, Goud VV, Hu B. Mixotrophic growth regime of novel strain *Scenedesmus* sp. DDVG I in municipal wastewater for concomitant bioremediation and valorization of biomass. *Journal of Cleaner Production*. 2022;365:132834. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.132834>
64. Phukan D, Kumar V, Singh A, Anand S. Accessing biochemical shifts in a novel *Scenedesmus* strain via acetaminophen detoxification: Experiment utilizing Box-Behnken optimization and isotherm analysis. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2024;193:105841. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2024.105841>
65. Wu G, Zhuang D, Chew KW, Ling TC, Khoo KS, *et al.* Current status and future trends in removal, control, and mitigation of algae food safety risks for human consumption. *Molecules*. 2022;27(19):6633. <https://doi.org/10.3390/molecules27196633>
66. Chauhan DS, Sahoo L, Mohanty K. Maximize microalgal carbon dioxide utilization and lipid productivity by using toxic flue gas compounds as nutrient source. *Bioresource Technology*. 2022;348:126784. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126784>
67. Osundeko O, Dean AP, Davies H, Pittman JK. Acclimation of microalgae to wastewater environments involves increased oxidative stress tolerance activity. *Plant and Cell Physiology*. 2014;55(10):1848–1857. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu113>
68. Yang Y, Zhao J, Song M, Yu J, Yu X, *et al.* Analysis of photosynthetic pigments pathway produced by CO₂-toxicity-induced *Scenedesmus obliquus*. *Science of the Total Environment*. 2023;867:161309. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161309>
69. Bose A, Sharma S. Global regulatory trends and comparative insights: Nutraceuticals in the USA, India, and Europe. *PharmaNutrition*. 2025;31:100430. <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2025.100430>
70. Santhakumaran P, Ayyappan SM, Ray JG. Nutraceutical applications of twenty-five species of rapid-growing green-microalgae as indicated by their antibacterial, antioxidant and mineral content. *Algal Research*. 2020;47:101878. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101878>
71. Fihri RF, Ez-Zoubi A, Mbarkiou L, Amar A, Farah A, *et al.* Antibacterial and antioxidant activities of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus incrassatulus* using natural deep eutectic solvent under microwave assisted by ultrasound. *Heliyon*. 2024;10(15):e35071. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35071>
72. Zaharieva MM, Zheleva-Dimitrova D, Rusinova-Videva S, Ilieva Y, Brachkova A, *et al.* Antimicrobial and antioxidant potential of *Scenedesmus obliquus* microalgae in the context of integral biorefinery concept. *Molecules*. 2022;27(2):519. <https://doi.org/10.3390/molecules27020519>
73. Reyna-Martinez R, Gomez-Flores R, López-Chuken U, Quintanilla-Licea R, Caballero-Hernandez D, *et al.* Antitumor activity of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus* sp. microalgae native of Nuevo León State, México. *PeerJ*. 2018;6:e4358. <https://doi.org/10.7717/peerj.4358>
74. Yadav K, Saxena A, Gupta M, Saha B, Sarwat M, *et al.* Comparing pharmacological potential of freshwater microalgae carotenoids towards antioxidant and anti-proliferative activity on liver cancer (HUH7) cell line. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2024;196(4):2053–2066. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04635-2>
75. Shaima AF, Yasin NHM, Ibrahim N, Takriff MS, Gunasekaran D, *et al.* Unveiling antimicrobial activity of microalgae *Chlorella sorokiniana* (UKM2), *Chlorella* sp.(UKM8) and *Scenedesmus* sp.(UKM9). *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2022;29(2):1043–1052. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.069>
76. Limón P, Malheiro R, Casal S, Acién-Fernández FG, Fernández-Sevilla JM, *et al.* Improvement of stability and carotenoids fraction of virgin olive oils by addition of microalgae *Scenedesmus almeriensis* extracts. *Food Chemistry*. 2015;175:203–211. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.150>
77. da Silva ME, de Paula Correa K, Martins MA, da Matta SL, Martino HS, *et al.* Food safety, hypolipidemic and hypoglycemic activities, and *in vivo* protein quality of microalga *Scenedesmus obliquus* in Wistar rats. *Journal of Functional Foods*. 2020;65:103711. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103711>
78. Hlaing SAA, Sadiq MB, Anal AK. Enhanced yield of *Scenedesmus obliquus* biomacromolecules through medium optimization and development of microalgae based functional chocolate. *Journal of Food Science and Technology*. 2020;57(3):1090–1099. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04144-3>

79. do Nascimento TC, Pinheiro PN, Fernandes AS, Murador DC, Neves BV, et al. Bioaccessibility and intestinal uptake of carotenoids from microalgae *Scenedesmus obliquus*. LWT. 2021;140:110780. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110780>
80. Udayan A, Pandey AK, Sharma P, Sreekumar N, Kumar S. Emerging industrial applications of microalgae: Challenges and future perspectives. Systems Microbiology and Biomanufacturing. 2021;1(4):411–431. <https://doi.org/10.1007/s43393-021-00038-8>
81. Çelekli A, Özbal B, Bozkurt H. Challenges in functional food products with the incorporation of some microalgae. Foods. 2024;13(5):725. <https://doi.org/10.3390/foods13050725>
82. Balasubramaniam V, Gunasegavan RD-N, Mustar S, Lee JC, Mohd Noh MF. Isolation of industrial important bioactive compounds from microalgae. Molecules. 2021;26(4):943. <https://doi.org/10.3390/molecules26040943>
83. Zhang H, Zhao L, Chen Y, Zhu M, Xu Q, et al. Trophic transition enhanced biomass and lipid production of the unicellular green alga *Scenedesmus acuminatus*. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2021;9:638726. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.638726>
84. Sharma P, Gujjala LKS, Varjani S, Kumar S. Emerging microalgae-based technologies in biorefinery and risk assessment issues: Bioeconomy for sustainable development. Science of the Total Environment. 2022;813:152417. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152417>
85. Tang DYY, Khoo KS, Chew KW, Tao Y, Ho S-H, et al. Potential utilization of bioproducts from microalgae for the quality enhancement of natural products. Bioresource Technology. 2020;304:122997. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122997>
86. Silva M, Geada P, Pereira RN, Teixeira JA. Microalgae biomass—A source of sustainable dietary bioactive compounds towards improved health and well-being. Food Chemistry Advances. 2025;6:100926. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2025.100926>
87. Vieira MV, Pastrana LM, Fuciños P. Microalgae encapsulation systems for food, pharmaceutical and cosmetics applications. Marine Drugs. 2020;18(12):644. <https://doi.org/10.3390/md18120644>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2586>
<https://elibrary.ru/LRQUNI>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Исследование антиоксидантной активности растительного сырья как натурального стабилизатора пищевых продуктов



А. Р. Варданян^{1,*}, С. А. Арутюнян², Г. О. Торосян^{1,3}

¹ Горисский государственный университет^{ROR}, Горис, Армения

² Армянский государственный экономический университет^{ROR}, Ереван, Армения

³ Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА, Ереван, Армения

Поступила в редакцию: 17.03.2025

Принята после рецензирования: 06.05.2025

Принята к публикации: 01.07.2025

*А. Р. Варданян: luizavardanyan211@gmail.com,

<https://orcid.org/0000-0001-6627-2293>

С. А. Арутюнян: <https://orcid.org/0009-0004-6123-4799>

Г. О. Торосян: <https://orcid.org/0000-0002-5121-8953>

© А. Р. Варданян, С. А. Арутюнян, Г. О. Торосян, 2025



Аннотация.

Антиоксиданты, защищающие организм от вредного воздействия свободных радикалов и предотвращающие разрушение липидов и других питательных веществ, приобретают все большую популярность. Рост спроса на природные аналоги синтетических антиоксидантов, способных продлить срок хранения продуктов и улучшить здоровье потребителей, обуславливает актуальность изучаемой темы. Цель исследования – изучить антиоксидантные свойства экстрактов плодовых растений семейства *Rosaceae* для оценки их потенциала как натуральных стабилизаторов пищевых продуктов, учитывая влияние региона на активность антиоксидантов.

Объекты исследования – этилацетатные экстракты плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.), боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Nutt.) и боярышника черного (*Crataegus nigra* Waldst. & Kit.), собранные в южном регионе Республики Армения в период полной спелости. Антиоксидантная активность определялась кинетическим методом на примере модельной реакции инициированного окисления кумола при температуре 348 К с использованием манометрической установки с автоматическим регулированием давления для точной регистрации поглощения кислорода реакционной смесью.

Наибольшей антиоксидантной активностью обладал экстракт плодов боярышника кроваво-красного ($k_t \approx 5,5 \times 10^{-3}$ л/моль·с), что в 2,5 раза выше показателей рябины обыкновенной ($k_t \approx 2,3 \times 10^{-3}$ л/моль·с). При этом эффективная концентрация антиоксидантов в экстрактах рябины обыкновенной составила 3,8 моль/л, что несколько выше по сравнению с их концентрацией в боярышнике кроваво-красном (3,5–3,8 моль/л). Экстракт боярышника черного характеризуется более низкими показателями как по содержанию антиоксидантов (0,66 моль/л), так и по антиоксидантной активности ($2,4 \times 10^{-4}$ л/моль·с). Однако продукты окисления антиоксидантов боярышника черного проявляли значительную антиоксидантную активность ($k_{\pi} = 6,48 \times 10^2$ л/моль·с), что почти в три раза выше аналогичного показателя для боярышника кроваво-красного.

На основании полученных результатов этилацетатные экстракты плодов боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной могут быть рекомендованы в качестве эффективных природных антиоксидантов для использования в пищевой промышленности с целью замены синтетических аналогов и увеличения сроков хранения продуктов. Благодаря высокой антиоксидантной активности вторичных продуктов окисления экстракт боярышника черного, несмотря на низкую исходную антиоксидантную активность, перспективен для специфических пищевых систем, где важен пролонгированный защитный эффект.

Ключевые слова. Антиоксиданты, стабилизаторы, растительные экстракты, *Sorbus aucuparia*, *Crataegus sanguinea*, *Crataegus nigra*, окисление кумола, качество, срок хранения

Финансирование. Работа финансировалась за счет средств бюджета Горисского государственного университета. Дополнительных грантов на проведение или руководство данным исследованием получено не было.

Для цитирования: Варданян Л. Р., Арутюнян С. А., Торосян Г. О. Исследование антиоксидантной активности растительного сырья как натурального стабилизатора пищевых продуктов. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 485–495. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2586>

Antioxidant Activity of Plant Raw Materials as Natural Food Stabilizers



Luiza R. Vardanyan^{1,*}, Siranush H. Harutyunyan²,
Gagik H. Torosyan^{1,3}

¹ Goris State University^{ROR}, Goris, Armenia

² Armenian State University of Economics^{ROR}, Yerevan, Armenia

³ Scientific and Technological Center of Organic and Pharmaceutical Chemistry,
Armenian National Academy of Sciences, Yerevan, Armenia

Received: 17.03.2025
Revised: 06.05.2025
Accepted: 01.07.2025

*Luiza R. Vardanyan: luizavardanyan211@gmail.com,
<https://orcid.org/0000-0001-6627-2293>
Siranush H. Harutyunyan: <https://orcid.org/0009-0004-6123-4799>
Gagik H. Torosyan: <https://orcid.org/0000-0002-5121-8953>

© L.R. Vardanyan, S.H. Harutyunyan, G.H. Torosyan, 2025



Abstract.

Antioxidants protect living organisms from free radicals, as well as prevent the destruction of lipids and other nutrients. Natural alternatives to synthetic antioxidants can extend the shelf-life of food products and improve consumers' health. Extracts of *Rosaceae* berries are known for their antioxidant properties and have a good potential as food stabilizers; however, their efficiency may depend on the region.

The research featured ethyl acetate extracts from mountain ash berries (*Sorbus aucuparia* L.), blood-red hawthorn (*Crataegus sanguinea* Nutt.), and black hawthorn (*Crataegus nigra* Waldst. & Kit.), harvested ripe in the south of the Republic of Armenia. The kinetic modeling of cumene oxidation (348 K) made it possible to determine the antioxidant activity. The experiment involved a manometric installation with automatically regulated pressure that recorded oxygen absorption in the reaction mix.

The blood-red hawthorn extract demonstrated the highest antioxidant activity ($k_7 \approx 5.5 \times 10^{-3}$ L/mol·s), exceeding the mountain ash indicators ($k_7 \approx 2.3 \times 10^{-3}$ L/mol·s) by 2.5 times. The effective concentration of antioxidants in the mountain ash extracts was slightly higher (3.8 mol/L) than in the blood-red hawthorn extract (3.5–3.8 mol/L). The black hawthorn extract showed much lower indicators in both antioxidant content (0.66 mol/L) and activity (2.4×10^{-4} L/mol·s). However, the oxidation products of black hawthorn antioxidants exhibited a strong antioxidant activity ($k_{71} = 6.48 \times 10^2$ L/mol·s), almost three times higher than the corresponding indicator for the blood-red hawthorn sample.

The ethyl acetate extracts of blood-red hawthorn (*Crataegus sanguinea* Nutt.) and mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.) proved to be effective natural antioxidants that could replace synthetic food stabilizers and extend shelf-life. Despite its low initial antioxidant activity, the black hawthorn extract (*Crataegus nigra* Waldst. & Kit.) might be recommended for specific food systems with prolonged protective effects.

Key words. Antioxidants, stabilizers, plant extracts, *Sorbus aucuparia*, *Crataegus sanguinea*, *Crataegus nigra*, cumene oxidation, quality, shelf life

Funding. This work was funded from the budget of the Goris State University. No additional grants have been received to conduct or direct this particular study.

For citation: Vardanyan LR, Harutyunyan SH, Torosyan GH. Antioxidant Activity of Plant Raw Materials as Natural Food Stabilizers. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):485–495. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2586>

Введение

Антиоксиданты обычно используются в качестве добавок к пище. Их также исследуют на предмет ингибирования различных заболеваний, таких как болезни сердца и рак. Экзогенные типы антиоксидантов (витамины, флавоноиды, антоцианы и некоторые минеральные соединения) получают из природных источников.

Кроме того, их производят синтетическим путем, например бутилоксианизол, бутилгидрокситолуол и галлаты. В последнее время популярность приобретают антиоксиданты, созданные специально для защиты организма от вредного воздействия свободных радикалов и предотвращения деградации липидов и других питательных веществ [1].

Окультуренные ягоды – малина, клубника, черная смородина, черника, а также ряд фруктов (например, вишня) являются источниками антиоксидантов, витаминов, минералов и других полезных для здоровья и благополучия человека веществ. Однако существуют также дикорастущие ягоды и фрукты, которые являются ценными продуктами питания благодаря лечебным свойствам. Они содержат фенольные соединения, антиоксиданты и витамины, что делает их перспективными для использования в производстве функциональных продуктов питания. Данная статья посвящена изучению антиоксидантной активности плодов представителей семейства Розоцветных (*Rosaceae*): дикорастущей рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.), боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Nutt.) и боярышника черного (*Crataegus nigra* Waldst. & Kit.).

Актуальной задачей пищевой промышленности является поиск безопасных и эффективных способов стабилизации качества продуктов питания с помощью антиоксидантных добавок. Нахождение таких стабилизаторов является важнейшей задачей, которая стоит также перед фармацевтической и косметической индустриями [1, 2]. Особый интерес представляют натуральные стабилизаторы растительного происхождения, обладающие антиоксидантной активностью (АОА) [3]. АОА растительного сырья способствует его эффективному применению в пищевой промышленности. Использование растительного сырья в качестве источника природных антиоксидантов позволяет не только увеличить срок хранения пищевых продуктов, но и повысить их пищевую ценность [4]. Возрастающий интерес к антиоксидантам из натуральных источников также обусловлен сопутствующими преимуществами для человеческого здоровья [5]. Антиоксиданты являются важными веществами, которые помогают предотвратить процесс окисления. Окисление относится к химической реакции, способной производить свободные радикалы, в результате чего могут возникнуть цепные реакции, потенциально вызывающие серьезные повреждения клеток организма [6].

Исследования показывают, что растительное сырье содержит широкий спектр биологически активных соединений, включая полифенолы, флавоноиды, аскорбиновую кислоту и токоферолы, которые проявляют выраженные антиоксидантные свойства [7]. Антиоксидантная активность растительного сырья играет важную роль в разработке натуральных стабилизаторов для пищевых продуктов. Эти соединения способны эффективно ингибировать процессы окисления в пищевых системах, предотвращая накопление свободных радикалов и продуктов перекисного окисления липидов [8]. Это особенно важно для сохранения мясо-молочных продуктов и различных масел, подверженных быстрому окислительному повреждению. Такие вещества способствуют снижению прогорклости масел и жиров. Помимо увеличения срока хранения пищевых продуктов, антиоксиданты также

могут приносить пользу организму человека. Более того, антиоксиданты продлевают срок годности уже готовленных продуктов питания, например чипсов и орехов, и сохраняют свежесть и вкусовые качества молочных продуктов.

Замена синтетических антиоксидантов на натуральные компоненты соответствует современным тенденциям создания безопасных пищевых продуктов и отвечает растущему потребительскому спросу на «чистую этикетку» [9]. Однако эффективность применения растительных антиоксидантов в различных пищевых системах требует детального изучения.

В связи с этим особый научный интерес представляют дикорастущие плодовые растения семейства Розоцветных (*Rosaceae*), широко распространенные в умеренных широтах и традиционно используемые в народной медицине. Среди перспективных представителей семейства можно выделить рябину обыкновенную (*S. aucuparia*), боярышник кроваво-красный (*C. sanguinea*) и боярышник черный (*C. nigra*), которые характеризуются богатым химическим составом и высоким содержанием веществ с антиоксидантными свойствами.

Рябина обыкновенная (*S. aucuparia*) – древесное растение семейства Розоцветных (*Rosaceae*), широко распространенное как в диком виде, так и в культурных насаждениях. Встречается в форме дерева или крупного кустарника.

Плоды рябины обыкновенной, несмотря на отсутствие статуса официального лекарственного растительного сырья, активно используются в составе витаминных сборов благодаря богатому комплексу биологически активных веществ. Фитохимический анализ показывает наличие разнообразных групп соединений, включая витамины (С, В, Е), каротиноиды, фенольные соединения (флавоноиды, в том числе антоцианы, фенольные кислоты, дубильные вещества), полисахариды (пектиновые вещества и свободные сахара), цианогенные соединения, органические кислоты, а также широкий спектр микро- и макроэлементов [10, 11].

Особый интерес представляют фенольные соединения плодов рябины (прежде всего проантоцианидины), обуславливающие основные фармакологические эффекты. Исследования демонстрируют, что они обладают антиоксидантной, имунотропной, противовоспалительной и капилляроукрепляющей активностями [12, 13], а также могут выступать в качестве геропротектива [14].

В отличие от рябины обыкновенной, плоды боярышника кроваво-красного (*C. sanguinea*) являются официальным лекарственным растительным сырьем и включены в Государственную фармакопею Российской Федерации [15]. Широкое применение в медицинской практике обусловлено богатым химическим составом его плодов. Фитохимические исследования показывают наличие различных групп биологически активных веществ: флавоноидов (гиперозид, кверцетин, витексин), проантоцианидинов, тритерпеновых сапони-

нов (кратегусовая и урсоловая кислоты), органических кислот (лимонная, яблочная), витаминов (С, К, Е), каротиноидов, пектиновых веществ и сахаров [16, 17].

Боярышник черный (*C. nigra*) – кустарник или небольшое дерево из Восточной Сибири и Дальнего Востока России. Его темноокрашенные плоды богаты антоцианами, преимущественно производными цианидина (цианидин-3-галактозид и цианидин-3-глюкозид), что подтверждено хроматографическими исследованиями [18]. Благодаря высокому содержанию антоцианов и других фенольных соединений плоды обладают выраженными антиоксидантными, противовоспалительными и кардиопротекторными свойствами [19].

Богатый химический состав плодов рябины обыкновенной (*S. aucuparia*), боярышника кроваво-красного (*C. sanguinea*) и боярышника черного (*C. nigra*) делает их перспективным сырьем для пищевой промышленности. Они могут быть использованы в производстве функциональных продуктов питания, обогащенных натуральными антиоксидантами и другими биологически активными веществами, а также в качестве натуральных красителей. Кроме того, они могут применяться в молочной, кондитерской, масложировой, пивобезалкогольной и других отраслях пищевой промышленности.

Антиоксиданты существуют в различных формах, каждая из которых выполняет уникальную функцию в организме и действует по своему механизму [1, 5]. Важно отметить, что есть существенное различие между потреблением антиоксидантов в составе натуральных продуктов питания и приемом изолированных антиоксидантных компонентов в виде пищевых добавок [5]. Общий антиоксидантный потенциал пищевых продуктов определяется не просто суммой отдельных компонентов, а их синергетическими и окислительно-восстановительными взаимодействиями между многочисленными типами биологически активных молекул [20]. При оценке антиоксидантной эффективности растительного сырья следует принимать во внимание, что содержание и активность антиоксидантов в одних и тех же фруктах или овощах может существенно варьироваться в зависимости от географического положения, климатических условий, состава почвы, высоты над уровнем моря и других экологических факторов территории их произрастания [21].

Необходимо также учитывать, что многие биоактивные вещества, демонстрирующие высокую эффективность в условиях лабораторных фармакологических экспериментов *in vitro*, могут проявлять значительно меньшую активность или вовсе отличаться по механизму действия при введении в организм человека вследствие особенностей метаболизма, биодоступности и фармакокинетики [22]. Данный феномен обуславливает необходимость комплексного подхода к оценке антиоксидантной активности, включающего не только исследования *in vitro*, но и клинические испытания.

В научной литературе [3, 4, 7] преимущественно представлены данные о содержании антиоксидант-

ных веществ в эфирных маслах и экстрактах из сотен лекарственных растений, ягод, фруктов и овощей, определенные различными физико-химическими методами аналитической химии [9] – вольтамперометрией, жидкостной и газовой хроматографией, масс-спектрометрией, хемилюминесценцией и др. Однако в большинстве исследований приводится лишь суммарное содержание антиоксидантов (хотя в заголовках работ часто указывается «Антиоксидантная активность...»), но не изучается их ингибирующее действие на конкретных моделях окислительных процессов.

Растительные экстракты, особенно эфирные масла, помимо антиоксидантов, содержат более ста различных органических соединений, которые могут по-разному влиять на ингибирующую способность и на процесс окисления в целом. В связи с этим, прежде чем рекомендовать определенный экстракт или эфирное масло в качестве источника антиоксидантов, необходимым и обязательным условием является экспериментальное изучение их ингибирующего действия на конкретных модельных реакциях окисления. Это особенно важно, поскольку компоненты растительных экстрактов могут взаимодействовать между собой, вызывая эффекты синергизма (взаимного усиления) или антагонизма (взаимного ослабления) [10], что существенно модифицирует суммарную антиоксидантную активность растительного сырья по сравнению с теоретическими расчетами.

Цель исследования – комплексное изучение антиоксидантных свойств экстрактов плодов рябины обыкновенной, боярышника кроваво-красного и боярышника черного из южного региона Республики Армения для оценки перспектив их использования в качестве натуральных стабилизаторов пищевых продуктов. Исследования такого рода учитывают факт варьирования биологической активности природных антиоксидантов в зависимости от географического региона их произрастания.

Объекты и методы исследования

В процессе исследования антиоксидантных свойств растительного сырья особое внимание уделялось точности определения количественных параметров, характеризующих как содержание антиоксидантов, так и их активность. Для исследования были выбраны: рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.), боярышник кроваво-красный (*Crataegus sanguinea* Nutt.) и боярышник черный (*Crataegus nigra* Waldst. & Kit.). Выбор данных видов растений обусловлен их широким распространением, традиционным использованием в народной медицине и предварительными данными о высоком содержании в них биологически активных веществ с антиоксидантными свойствами. Плоды исследуемых растений собирали в период их полной спелости (сентябрь–октябрь 2024 г.) в утренние часы (с 8 до 10 ч) после высыхания росы в экологически чистых районах южного региона Республики Армения на высоте 1200–1500 м над уровнем моря.

Пробоподготовка растительного сырья. Свежесобранные плоды были подвергнуты первичной обработке: тщательно промывали дистиллированной водой для удаления поверхностных загрязнений и высушивали при комнатной температуре (22–25 °С) в затененном, хорошо проветриваемом помещении. Контроль влажности сырья осуществляли гравиметрическим методом. Высушенное сырье измельчали в лабораторной мельнице до порошкообразного состояния и просеивали через стандартизированное сито с размером ячеек 1 мм для получения однородной фракции, что обеспечивало воспроизводимость результатов при последующей экстракции.

Получение экстрактов. Экстракцию измельченного сырья проводили при комнатной температуре с использованием очищенного этилацетата ($\geq 99,5\%$, Sigma-Aldrich) в соотношении 20 мл растворителя на 1 г сырья. Выбор этилацетата в качестве экстрагента был обоснован предварительными сравнительными исследованиями эффективности различных растворителей (хлороформ, диэтиловый эфир, этанол, бензол, ацетон) в извлечении антиоксидантных соединений из растительного материала. Экстракцию проводили в течение 24 ч в плоскодонной колбе с периодическим перемешиванием на магнитной мешалке для интенсификации процесса массопереноса. После завершения экстракции смесь фильтровали через бумажный фильтр средней пористости, а полученный фильтрат упаривали до постоянной массы в вакууме при температуре 313 К (40 °С).

Методика определения антиоксидантной активности. Исследование антиоксидантной активности полученных экстрактов проводили кинетическим методом на примере модельной реакции инициированного окисления кумола. Данный метод был выбран как наиболее информативный, позволяющий не только количественно определить эффективное содержание антиоксидантов, но и оценить их способность прерывать цепи окисления в условиях, приближенных к реальным процессам, протекающим в различных пищевых системах.

Для проведения кинетических исследований была использована манометрическая установка с автоматическим регулированием давления, позволяющая с высокой точностью регистрировать количество поглощенного кислорода реакционной смесью. Установка состоит из реактора объемом 10 мл, термостата с точностью поддержания температуры $\pm 0,1$ °С, системы манометрических трубок, градуированной бюреты и электролизера. Принцип работы установки основан на компенсации уменьшения давления в системе, вызванного поглощением кислорода в процессе окисления, путем электролитического выделения эквивалентного количества газа.

При анализе антиоксидантного действия экстрактов принимали во внимание, что растительные экстракты представляют собой многокомпонентные сис-

темы, содержащие комплекс биологически активных веществ с различными антиоксидантными свойствами. В таких системах могут проявляться как синергетические, так и антагонистические эффекты между различными компонентами, что оказывает влияние на суммарную антиоксидантную активность. Так как количественная оценка вклада отдельных компонентов и их взаимного влияния представляет значительную методологическую сложность, в данном исследовании определяли эффективную (суммарную) антиоксидантную активность экстрактов, которая отражает интегральный результат действия всех антиоксидантных компонентов с учетом их возможных взаимодействий.

Подготовка и очистка реактивов. Перед проведением измерений все используемые реактивы подвергали тщательной очистке. Кумол (изопропилбензол, х.ч.) очищали многократной промывкой концентрированной серной кислотой (96 %) в соотношении 1:7 по объему до прекращения окрашивания кислотного слоя. После чего трехкратно промывали дистиллированной водой, затем 5 % раствором NaOH. Окончательно промывали дистиллированной водой до нейтральной реакции (pH = 7). Очищенный кумол высушивали над безводным хлоридом кальция и перегоняли над металлическим натрием в атмосфере азота. Чистоту полученного кумола контролировали по отсутствию периодов индукции на кинетических кривых его окисления, а также по совпадению температуры кипения (419 К при 85 кПа) и показателя преломления 1,4918 с литературными данными.

В качестве растворителя использовали хлорбензол, который подвергали аналогичной процедуре очистки. Инициатором радикальных процессов служил азо-ди-изо-бутиронитрил (98 %, Sigma-Aldrich), дополнительно очищенный многократной перекристаллизацией из этанольного раствора.

Процедура измерений и обработка данных. Определение антиоксидантной активности проводили следующим образом: реактор объемом 5 мл заполняли реакционной смесью, содержащей кумол (2,87 моль/л), инициатор азо-ди-изо-бутиронитрила в хлорбензоле и исследуемый экстракт в различных концентрациях. Реактор охлаждали до 273 К, после чего из реакционной смеси и системы откачивали воздух с помощью форвакуумного насоса и заполняли кислородом. Эту операцию повторяли трижды для полного замещения воздуха кислородом. Затем реактор помещали в термостат с заданной температурой (348 К) и включали механическое перемешивание с частотой 8–10 колебаний в секунду, что обеспечивало протекание реакции в кинетическом режиме.

За ходом реакции следили, регистрируя объем поглощенного кислорода в зависимости от времени. Скорость поглощения кислорода (V , моль/л·с) определяли по формуле:

$$V = \left(\frac{A}{T} \right) \times \operatorname{tg} \alpha$$

где T – температура бюреты, К; $\operatorname{tg} \alpha$ – тангенс угла наклона кинетической кривой поглощения кислорода, мм/мин; A – постоянная используемой манометрической установки ($2,65 \times 10^{-4}$), определяемая как:

$$A = \frac{P\pi d^2}{4 \times 60 \times RTV}$$

где P – атмосферное давление, Па; $R = 8,31$ Дж/моль·К; d – диаметр бюреты (3,1 мм); V – объем реакционной смеси, мл.

Количественное определение антиоксидантов в экстрактах проводилось на основе наблюдаемых периодов индукции на кинетических кривых поглощения кислорода с применением уравнения (1)

$$\tau = \frac{m}{V_i} = \frac{f[InH]_0}{V_i} \quad (1)$$

где $[InH]_0$ – содержание антиоксидантов в данной навеске экстракта; m – содержание экстракта, мг; V_i – скорость инициирования; f – стехиометрический коэффициент ингибирования (число радикалов, обрывающихся на одной молекуле ингибитора). Поскольку в химическом составе исследованные экстракты имеют несколько антиоксидантов, то параметры f невозможно определить. По этой причине в наших расчетах приведены не абсолютные, а эффективные содержания антиоксидантов.

Критерии оценки антиоксидантных свойств.

Антиоксидантное действие экстрактов растений оценивали по трем ключевым параметрам:

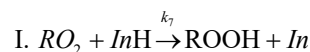
1. Содержание антиоксидантов – данный показатель имеет первостепенное значение, поскольку более высокое содержание антиоксидантов в исследуемом экстракте обеспечивает более продолжительное время торможения радикального процесса окисления. Количественное содержание антиоксидантов напрямую влияет на длительность защитного эффекта и определяет потенциальную возможность использования экстракта в качестве пищевого стабилизатора.

2. Емкость антиоксидантов характеризует число радикалов, обрывающихся на одной молекуле антиоксиданта. Для сложных экстрактов определение данного параметра представляет значительную методологическую сложность, поскольку экстракты, как правило, содержат в своем химическом составе два и более антиоксидантных вещества, между которыми могут возникать сложные взаимодействия, приводящие как к синергетическому усилению (синергизму), так и к взаимному ослаблению действия (антагонизму) [10]. Поэтому для растительных экстрактов данный параметр не определяли.

3. Антиоксидантная активность (АОА) – количественно характеризуется константой скорости реакции k_7 , отражающей способность вещества взаимодействовать со свободными радикалами и прерывать цепь окисления. Для растительных экстрактов определяемая антиоксидантная активность является эффективной

величиной, поскольку в реакции участвует не одно индивидуальное соединение-ингибитор, а комплекс антиоксидантных соединений различной природы.

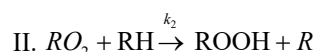
В работе приведены также результаты расчетов антиоксидантных активностей. АОА ингибиторов в реакциях окисления характеризуется константой скорости реакции линейного обрыва цепи:



При расчетах k_7 пользовались уравнением (2) [16]:

$$[O_2] = -\frac{k_2}{k_7} [RH] \ln \left(1 - \frac{T}{\tau} \right) \quad (2)$$

где k_2 – константа скорости реакции продолжения цепи



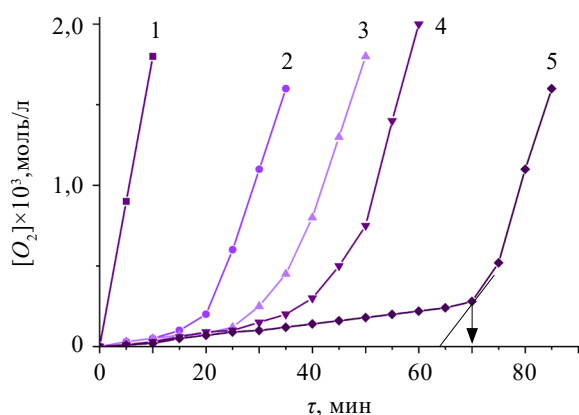
где $[RH]$ – концентрация окисляющегося вещества-кумола, $[O_2]$ – количество поглощенного кислорода за время периода индукции $T < \tau$. Период индукции определяется графически на кинетических кривых поглощения кислорода по координате точки пересечения двух прямых, для которых $\operatorname{tg} \alpha_1 = 2\operatorname{tg} \alpha_2$ или $V_\infty = 2V$. V_∞ – скорость поглощения кислорода после выхода из индукционного периода, $f[InH]_0$ в присутствии ингибитора.

При анализе антиоксидантного действия экстрактов учитывали возможность проявления как синергетических, так и антагонистических эффектов между различными компонентами, что отражается на эффективной константе скорости реакции обрыва цепей окисления.

Результаты и их обсуждение

Полученные экстракты представляли собой вязкие субстанции от светло-желтого до темно-коричневого цвета с характерным ароматом. Выход экстрактивных веществ составил: для рябины обыкновенной – $7,8 \pm 0,3$ %, для боярышника кроваво-красного – $6,5 \pm 0,2$ %, для боярышника черного – $5,9 \pm 0,3$ % от массы воздушно-сухого сырья. Этилацетатные экстракты избирательно извлекают среднеполярные соединения, включая фенольные вещества, флавоноиды и некоторые формы витаминов, что делает их перспективными объектами для изучения антиоксидантной активности.

При исследовании процесса окисления кумола в присутствии анализируемых экстрактов были зарегистрированы кинетические кривые поглощения кислорода с ярко выраженными индукционными периодами (рис. 1). Присутствие таких индукционных периодов указывает на антиоксидантную активность компонентов экстрактов. Математическая обработка полученных индукционных периодов согласно уравнению (1) (рис. 2) позволила рассчитать эффективную концентрацию антиоксидантов ($f[InH]_0$) в изученных экстрактах. Полученные результаты приведены в таблице.



1 – без добавления экстрактов;
2 – рябина обыкновенная 0,373 мг;
3 – боярышник черный 2,692 мг; 4 – боярышник кроваво-красный 0,789 мг; 5 – боярышник кроваво-красный 1,31 мг

Рисунок 1. Кинетические кривые поглощения кислорода при окислении кумола в отсутствие и в присутствии экстрактов плодов ($V_i = 1,25 \times 10^{-7}$ моль/л·с, $T = 348$ К)

Figure 1. Kinetic curves of oxygen absorption during cumene oxidation with and without berry extracts ($V_i = 1,25 \times 10^{-7}$ mol/L·s, $T = 348$ K)

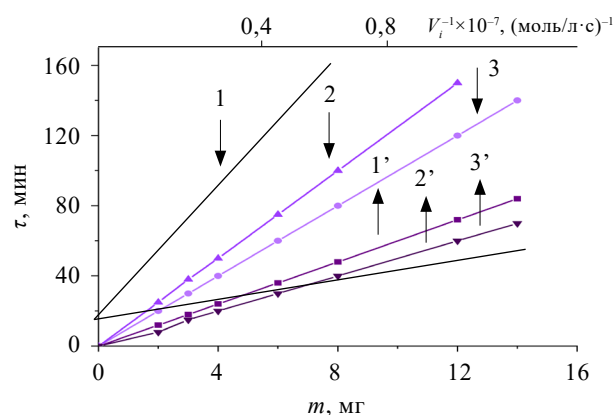


Рисунок 2. Зависимость периодов индукции поглощения кислорода при окислении кумола: от содержания экстрактов ($V_i = 1,25 \times 10^{-7}$ моль/л·с) из плодов боярышника кроваво-красного (1), боярышника черного (2) и рябины обыкновенной (3); от обратной величины скорости иницирования (1'; 2'; 3' $m_{\text{экст}} = 1,29$ мг, $T = 348$ К)

Figure 2. Dependence of induction time of oxygen absorption during cumene oxidation: on the content of extracts ($V_i = 1,25 \times 10^{-7}$ mol/L·s) of blood-red hawthorn (1), black hawthorn (2), and mountain ash (3); on the reciprocal value of the initiation rate (1'; 2'; 3' $m_{\text{extract}} = 1.29$ mg, $T = 348$ K)

Таблица. Содержание и кинетические параметры окисления антиоксидантов экстрактов плодов рябины обыкновенной, боярышника кроваво-красного и боярышника черного (348 К)

Table. Content and kinetic parameters of oxidation of antioxidants in extracts of mountain ash, blood-red hawthorn, and black hawthorn (348 K)

Плоды	$V_i \times 10^7$, моль/л·с	m , мг	τ , мин	$f[\ln H]^a \times 10^4$, моль/л	$V \times 10^6$, моль/л·с	$k_7 \times 10^4$, л/моль·с	$k_{71} \times 10^{-2}$, л/моль·с
Рябина обыкновенная	1,25	0	0	0	3,00	—	—
	1,25	0,201	10	3,81	1,94	23,02	—
	1,25	0,373	19	3,82	1,78	23,54	—
	1,25	0,548	29	3,91	2,56	22,89	—
	1,25	0,654	33	3,79	1,84	22,98	—
Боярышник кроваво-красный	1,25	0,452	21	3,5	1,81	55,00	2,99
	1,25	0,563	26	3,42	2,30	55,03	2,97
	1,25	0,789	40	3,8	2,58	54,89	2,96
	1,25	1,311	62	3,55	2,79	56,12	2,98
Боярышник черный	1,25	2,692	24	0,67	1,64	2,41	6,44
	1,25	2,255	20	0,66	2,21	2,52	6,48
	1,25	1,125	10	0,65	2,23	2,38	6,46

В таблице приведены также значения параметров k_7 , характеризующие АОО масел. Значения k_7 определяли, спрямляя экспериментальные данные поглощения кислорода за время индукционного периода в координатах уравнения (2). При этом учитывали, что для кумола $k_2 = 4,677 \times 10^6 \exp(-9800/RT)$ л/моль·с [24].

Анализ АОО исследуемых экстрактов показал существенные различия между изучаемыми видами растительного сырья. Наибольшую антиоксидантную активность продемонстрировал экстракт плодов

боярышника кроваво-красного, константа скорости реакции линейного обрыва цепи (k_7) которого составила около $5,5 \times 10^{-3}$ л/моль·с, что в 2,5 раза превышает показатели рябины обыкновенной ($2,3 \times 10^{-3}$ л/моль·с). При этом эффективная концентрация антиоксидантов в экстрактах рябины обыкновенной оказалась несколько выше (3,8 моль/л) по сравнению с боярышником кроваво-красным (3,5–3,8 моль/л).

Экстракт плодов боярышника черного характеризуется значительно более низкими показателями

как по содержанию антиоксидантов (0,66 моль/л), так и по антиоксидантной активности (2,410–4 л/моль·с). Это может быть связано с особенностями химического состава рассматриваемого растения, а также с возможным влиянием условий произрастания на накопление биологически активных веществ.

Исследование влияния концентрации экстрактов на их антиоксидантную активность показало наличие нелинейной зависимости для боярышника кроваво-красного при концентрациях выше 1,5 мг/мл. Это может быть связано с проявлением эффекта насыщения системы антиоксидантами или с возникновением агрегации компонентов экстракта при высоких концентрациях. Данное наблюдение имеет важное практическое значение для определения оптимальных дозировок экстрактов при их применении в пищевых системах. Для рябины обыкновенной зависимость антиоксидантной активности от концентрации носила линейный характер во всем исследованном диапазоне концентраций (0,2–1,0 мг/мл), что указывает на отсутствие взаимодействий между компонентами экстракта, способных повлиять на антиоксидантные свойства.

Полученные результаты по антиоксидантной активности этилацетатных экстрактов согласуются с общими тенденциями, описанными в исследованиях [7, 8], однако абсолютные значения констант скорости реакции линейного обрыва цепи (k_7) для экстрактов боярышника кроваво-красного оказались значительно выше средних показателей, характерных для растительных экстрактов. Это подтверждает высокий потенциал изученных экстрактов в качестве натуральных антиоксидантов. Особый интерес представляет сравнительно высокая антиоксидантная активность экстрактов рябины обыкновенной, которая, согласно данным [12, 13], может варьироваться в зависимости от условий произрастания и методов экстракции.

Изучение механизмов антиоксидантного действия экстрактов показало, что для боярышника кроваво-красного характерен преимущественно прямой механизм взаимодействия с пероксильными радикалами, о чем свидетельствует высокое значение константы скорости реакции k_7 . В то же время для экстрактов рябины обыкновенной важную роль играет не только прямое взаимодействие с радикалами, но и хелатирование ионов металлов переменной валентности, способных катализировать процессы окисления. Это подтверждается наличием в составе экстрактов рябины соединений с орто-дигидроксильными группами (катехиновой структурой), обладающих выраженной хелатирующей способностью [12].

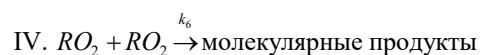
Анализ кинетических кривых показал интересную закономерность: в присутствии исследованных экстрактов (за исключением экстрактов из рябины обыкновенной) после завершения индукционных периодов скорость поглощения кислорода оставалась значительно ниже, чем при безингибированном окислении кумола. Это наглядно демонстрируют различия в тангенсах

углов наклона кинетических кривых на рисунке 1, где угол наклона кривой неингибированного окисления (кривая 1) существенно больше углов наклона кривых, соответствующих окислению в присутствии экстрактов боярышника кроваво-красного и боярышника черного после выхода из индукционных периодов. Такое явление визуально очевидно даже без проведения количественных расчетов и свидетельствует о продолжающемся антиоксидантном действии вследствие израсходования первичных антиоксидантов.

Этот факт объясняется антиоксидантным свойством продуктов окисления (Q) исходных антиоксидантов, находящихся в экстрактах. Продукты Q образуются в результате реакции:



При этом продукты Q отличаются от исходных антиоксидантов тем, что в их присутствии на кинетических кривых не обнаруживаются индукционные периоды, т. е. в их присутствии обрыв цепи осуществляется как квадратично:



так и линейно:



В этих условиях скорость окисления кумола после выхода из индукционного периода описывается уравнением (3):

$$V = k_2 [RH] \frac{k_{71} [Q]}{k_6} \left[\left(1 + \frac{k_6 V_i}{k_{71}^2 [Q]^2} \right)^{\frac{1}{2}} - 1 \right] \quad (3)$$

В отсутствие антиоксидантов скорость окисления кумола (V_0) равна:

$$V_0 = \frac{k_2}{\sqrt{k_6}} [RH] \sqrt{V_i} \quad (4)$$

Так, преобразуя уравнение (3), получим:

$$F = \frac{V_0}{V} - \frac{V}{V_0} = \frac{k_{71} [Q]}{\sqrt{k_6 V_i}} \quad (5)$$

где k_6 и k_{71} – константы скорости реакций (IV) и (V), V_i – скорость инициирования. Здесь k_{71} характеризует АОА продуктов Q .

На рисунках 3 и 4 экспериментальные данные спрямляются в координатах уравнения (5). Предполагая, что концентрация Q равна исходной концентрации антиоксидантов в данном экстракте, т. е. $[Q] = f[InH]$ из тангенса углов прямых (1') и (2'), вычислили значение k_{71} (с учетом, что кумол $k_6 = 4,74 \times 10^5 \exp(-1800/RT)$ [11]). Результаты приведены в таблице.

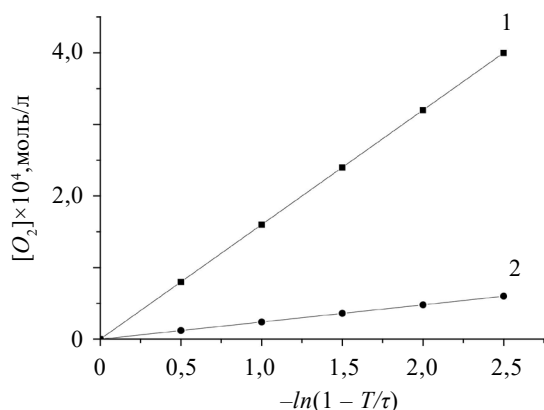


Рисунок 3. Зависимость концентрации поглощенного кислорода от параметра $\ln(1 - T/\tau)$ за время периода индукции при окислении кумола в присутствии экстрактов из плодов (1) боярышника черного и (2) боярышника кроваво-красного ($V_i = 1,25 \times 10^{-7}$ моль/л·с, $T = 348$ К)

Figure 3. Effect of $\ln(1 - T/\tau)$ on the concentration of oxygen absorbed during the induction of cumene oxidation with extracts of (1) black hawthorn and (2) blood-red hawthorn ($V_i = 1.25 \times 10^{-7}$ mol/L·s, $T = 348$ K)

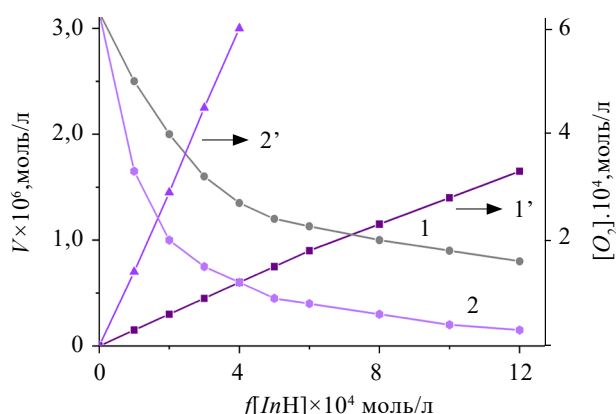


Рисунок 4. Зависимость скорости окисления кумола после выхода из периодов индукции от концентрации антиоксидантов, содержащихся в экстрактах из плодов боярышника черного (1) и боярышника кроваво-красного (2) и их спрямление (1', 2') в координатах уравнения (3) ($V_i = 1,25 \times 10^{-7}$ моль/л·с, $T = 348$ К)

Figure 4. Correlation between the oxidation rate of cumene after the induction periods on the concentration of antioxidants in extracts of black hawthorn (1) and blood-red hawthorn (2), and their straightening (1', 2') in Eq. 3 ($V_i = 1.25 \times 10^{-7}$ mol/L·s, $T = 348$ K)

Из данных таблицы следует, что из продуктов окисления исследованных экстрактов наибольшую АОА проявляют экстракты из плодов боярышника черного ($k_{71} = 6,48 \times 10^2$ л/моль·с), что почти в три раза больше АОА плодов боярышника кроваво-красного.

Обнаруженное явление антиоксидантной активности продуктов окисления исходных антиоксидантов

представляет интерес с точки зрения прикладного использования данных экстрактов. На основании анализа кинетических данных (рис. 3 и 4) можно предположить, что вклад вторичных антиоксидантов в общую антиоксидантную активность экстракта боярышника черного может быть значительным при длительном хранении стабилизированных продуктов. Это предположение основано на сравнении константы скорости реакции продуктов окисления антиоксидантов боярышника черного ($k_{71} = 6,48 \times 10^2$ л/моль·с) с аналогичным показателем для боярышника кроваво-красного. Такое соотношение активностей теоретически может обеспечивать каскадный эффект антиоксидантной защиты, когда первичные антиоксиданты, окисляясь, образуют вторичные антиоксиданты, продолжающие защитное действие. Однако точная количественная оценка данного эффекта в реальных пищевых системах требует дополнительных экспериментальных исследований с моделированием условий длительного хранения.

Выводы

Этилацетатные экстракты исследованных плодов семейства Розоцветные (*Rosaceae*) проявляют выраженную антиоксидантную активность в модельной реакции окисления кумола, что подтверждается наличием периодов индукции на кинетических кривых поглощения кислорода. Разработанная методика позволяет комплексно оценивать антиоксидантные свойства растительных экстрактов и может быть рекомендована для скрининга потенциальных природных стабилизаторов пищевых продуктов. После выхода из индукционных периодов кинетические кривые для некоторых экстрактов не стремятся к кривым безингибированного окисления, что указывает на антиоксидантную активность вторичных продуктов окисления и обеспечивает пролонгированное защитное действие.

Наибольшей антиоксидантной активностью обладает экстракт плодов боярышника кроваво-красного ($k_7 \approx 5,5 \times 10^{-3}$ л/моль·с), что делает его наиболее перспективным источником природных антиоксидантов для пищевой промышленности. Высокое значение константы скорости реакции линейного обрыва цепи свидетельствует о способности компонентов данного экстракта эффективно нейтрализовать свободные радикалы на начальных стадиях окислительных процессов. Анализ химического состава показывает, что высокая антиоксидантная активность боярышника кроваво-красного обусловлена наличием в нем флавоноидов (гиперозид, кверцетин, витексин), проантоцианидинов и других фенольных соединений, способных быстро реагировать с пероксильными радикалами.

Экстракт плодов рябины обыкновенной характеризуется стабильно высоким содержанием антиоксидантов (3,8 моль/л) при умеренной антиоксидантной активности ($k_7 \approx 2,3 \times 10^{-3}$ л/моль·с). Данное сочетание параметров обеспечивает продолжительный период защиты от окисления, что особенно важно для пищевых

продуктов с длительным сроком хранения. Богатый состав биологически активных веществ рябины обыкновенной, включающий витамины (С, Е), каротиноиды, фенольные соединения и проантоцианидины, обеспечивает комплексное антиоксидантное действие, способствуя не только увеличению срока хранения продуктов, но и повышению их пищевой ценности.

Экстракт плодов боярышника черного существенно уступает другим исследованным видам как по содержанию антиоксидантов (0,66 моль/л), так и по антиоксидантной активности ($2,4 \times 10^{-4}$ л/моль·с). Однако установлено, что продукты окисления антиоксидантов боярышника черного проявляют значительную антиоксидантную активность ($k_{71} = 6,48 \times 10^2$ л/моль·с), что почти в три раза превышает аналогичный показатель для боярышника кроваво-красного. Это открывает возможность использования данного экстракта в специализированных пищевых системах, где важна антиоксидантная активность вторичных продуктов, формирующихся в процессе хранения.

Результаты исследования позволяют обоснованно рекомендовать этилацетатные экстракты плодов боярышника кроваво-красного и рябины обыкновенной в качестве эффективных природных антиоксидантов для использования в пищевой промышленности с целью замены синтетических аналогов и увеличения сроков хранения продуктов.

Высокая антиоксидантная активность боярышника кроваво-красного ($k_7 \approx 5,5 \times 10^{-3}$ л/моль·с) позволяет рекомендовать экстракты из него для стабилизации пищевых систем, особенно подверженных окислительной порче. Стабильно высокое содержание антиоксидантов в экстрактах рябины обыкновенной (3,8 моль/л) делает их перспективными для длительной защиты пищевых продуктов от окисления.

Полученные экспериментальные данные создают научно-практическую основу для разработки новых технологических решений по использованию растительных экстрактов в качестве натуральных стабилизаторов пищевых продуктов. Дальнейшие исследования могут быть направлены на изучение синергетического действия комбинаций различных растительных экстрактов, а также на разработку технологий их применения в конкретных пищевых системах.

Антиоксидантная активность растительного сырья служит эффективным и естественным стабилизатором для пищевых продуктов. Используя растительные антиоксиданты, пищевая промышленность может сократить потребность в синтетических консервантах, одновременно улучшая пищевой профиль продуктов. Широкая доступность и разнообразие богатых антиоксидантами растений делает их привлекательным вариантом для улучшения срока годности и качества продуктов питания, а также предлагает потенциальную пользу для здоровья потребителей. Последующие исследования новых растительных антиоксидантов и их применения продолжают играть ключевую роль в продвижении методов консервирования продуктов питания.

Критерии авторства

Л. Р. Варданян – концептуализация исследования, проведение экспериментальных исследований, обработка результатов, подготовка и редактирование статьи. С. А. Арутюнян – подготовка исходных веществ, проведение экспериментальных исследований. Г. О. Торосян – концептуализация исследования, обработка результатов, подготовка и редактирование статьи. Все авторы ознакомились и согласились с опубликованной версией рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

L.R. Vardanyan developed the research concept, conducted the experiments, processed the results, and drafted the manuscript. S.A. Harutyunyan prepared the raw materials and conducted the experiments. G.O. Torosyan developed the research concept, processed the results, and drafted the manuscript. All authors agreed to the published version of the manuscript.

Conflict of interest

The authors declared no potential conflict of interest regarding the research, authorship, and / or publication of this article.

Список литературы / References

1. Sharifi-Rad J, Kumar NVA, Zucca P, Varoni EM, Dini L, et al. Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: Back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in Physiology*. 2020;11:694. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>
2. Тринеева О. В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. № 4. С. 180–197. [Trineeva OV. Methods of determination of antioxidant activity of plant and synthetic origins in pharmacy (Review). *Drug development & registration*. 2017;(4):180–197. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/ZTWVEX>
3. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;97:55–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
4. Taghvaei M, Jafari SM. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. *Journal of Food Science and Technology*. 2015;52(3):1272–1282. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1080-1>

5. Rahaman MM, Hossain R, Herrera-Bravo J, Islam MT, Atolani O, *et al.* Natural antioxidants from some fruits, seeds, foods, natural products, and associated health benefits: An update. *Food Science & Nutrition*. 2023;11(4):1657–1670. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3217>
6. Mititelu RR, Pădureanu R, Băcănioiu M, Pădureanu V, Docea AO, *et al.* Inflammatory and oxidative stress markers–Mirror tools in rheumatoid arthritis. *Biomedicines*. 2020;8(5):125. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8050125>
7. Das N. A review on efficacy of spices and herbs as per *Ayurveda* and their role as a potent antioxidant and antimicrobial agents. *Annals of Ayurvedic Medicine*. 2022;11(4):349–363. <https://doi.org/10.5455/AAM.18694>
8. Lourenço SC, Moldão-Martins M, Alves VD. Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. *Molecules*. 2019;24(22):4132. <https://doi.org/10.3390/molecules24224132>
9. Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*. 2015;18(Part B):820–897.
10. Андреева В. Ю., Исайкина Н. В., Цыбукова Т. Н., Петрова Е. В. Изучение элементного состава плодов калины обыкновенной и рябины обыкновенной различными современными методами. *Химия растительного сырья*. 2016. № 1. С. 177–180. [Andreeva VYu, Isaykina NV, Tsybukova TN, Petrova EV. The study of the elemental composition of fruits of *Viburnum opulus* L. and *Sorbus aucuparia* L. various modern methods. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ja*. 2016;(1):177–180. (In Russ.)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.201601893>
11. Исайкина Н. В., Калинкина Г. И., Андреева В. Ю., Шерстобоев Е. Ю., Масная Н. В. и др. Рябина обыкновенная: определение антоцианов в плодах. *Фармация*. 2015. № 1. С. 19–22. [Isaykina NV, Kalinkina GI, Andreeva VYu, Sherstoboev EYu, Masnaya NV, *et al.* Rowan (*Sorbus aucuparia* L.): Determination of antocyanins in the berries. *Farmatsiya*. 2015;(1):19–22. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/TLUINN>
12. Rutkowska M, Kołodziejczyk-Czepas J, Olszewska MA. The effects of *Sorbus aucuparia* L. fruit extracts on oxidative/Nitrative modifications of human fibrinogen, impact on enzymatic properties of thrombin, and hyaluronidase activity in vitro. *Antioxidants*. 2021;10(12):2009. <https://doi.org/10.3390/antiox10122009>
13. Aurori M, Niculae M, Hanganu D, Pall E, Cenariu M, *et al.* The Antioxidant, antibacterial and cell-protective properties of bioactive compounds extracted from rowanberry (*Sorbus aucuparia* L.) fruits *in vitro*. *Plants*. 2024;13(4):538. <https://doi.org/10.3390/plants13040538>
14. Platonova EYu, Golubev DA, Zemskaya NV, Shevchenko OG, Patov SA, *et al.* The antioxidant and geroprotective properties of an extract of mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.) fruits. *Molecular Biology*. 2023;57(6):979–994.
15. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Институт фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation edition XV. Institute of Pharmacopoeia and Medicinal Product Standardisation. [cited 2025 Mar 16] (In Russ.)] Available from: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>
16. Özderin S. Chemical properties, antioxidant, and antimicrobial activities of fruit extracts of *Crataegus monogyna* var. *odemisii*. *BioResources*. 2024;19(1):1542–1557.
17. Ülger TT, Oçkun MA, Guzelmeric E, Sen NB, Sipahi H, *et al.* Comprehensive analysis of the chemical and bioactivity profiles of endemic *Crataegus turcicus* dönmez in comparison with other *Crataegus* species. *Molecules*. 2023;28(18):6520. <https://doi.org/10.3390/molecules28186520>
18. Дейнека В. И., Макаревич С. Л., Дейнека Л. А., Фирсов Г. А., Сорокопудов В. Н. и др. Антоцианы плодов некоторых видов боярышника (*Crataegus* L., *Rosaceae*). *Химия растительного сырья*. 2014. № 4. С. 123–128. [Deyneka VI, Makarevich SL, Deyneka LA, Firsov GA, Sorokopudov VN, *et al.* Anthocyanins of some hawthorn species (*Crataegus* L., *Rosaceae*) fruits. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ja*. 2014;(4):123–128. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.14258/jcprm.1401119>
19. Буданцев А. Л., Беленовская Л. М., Битюкова Н. В. Компонентный состав и биологическая активность *Crataegus pinnatifida* (*Rosaceae*) (обзор). *Химия растительного сырья*. 2020. № 4. С. 31–58. [Budantsev AL, Belenovskaya LM, Bityukova NV. Component composition and biological activity of *Crataegus pinnatifida* (*Rosaceae*) (review). *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ja*. 2020;(4):31–58. (In Russ.)] <https://journal.asu.ru/cw/article/view/6612>
20. Butnariu M, Quispe C, Herrera-Bravo J, Sharifi-Rad J, Singh L, *et al.* The pharmacological activities of *Crocus sativus* L.: A review based on the mechanisms and therapeutic opportunities of its phytoconstituents. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022;8214821. <https://doi.org/10.1155/2022/8214821>
21. Stabnikova O, Stabnikov V, Parades-López O. Fruit of wild-crown shrubs for health nutrition. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2024;79(1):20–37. <https://doi.org/10.1007/s11130-024-01144-3>
22. Akhtar A. The Flaws and human harms of animal experimentation. *Cambridge Quarterly of Healthcare Ethics*. 2015; 24(4):407–419. <https://doi.org/10.1017/S0963180115000079>
23. Akimoto H. Homogeneous elementary reactions in the atmosphere and rate constants. *Atmospheric Reaction Chemistry*. Tokyo: Springer; 2016. pp. 165–238. https://doi.org/10.1007/978-4-431-55870-5_5
24. Atkins P, de Paula J. Atkins' physical chemistry. NY: Oxford University Press, 2018. 507 p.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2588>
<https://elibrary.ru/YFCDNN>

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

Optimizing the Dehydration and Quality Preservation of Sea Grapes (*Caulerpa lentillifera*)



Bui Thi Thu Hien*, Pham Thi Diem,
Dang Van An, Nguyen Khac Bat

Research Institute for Marine Fisheries, Hai Phong City, Viet Nam

Received: 28.03.2025
Revised: 27.04.2025
Accepted: 01.07.2025

*Bui Thi Thu Hien: btthien@mae.gov.vn,
<https://orcid.org/0000-0002-8146-758X>
Pham Thi Diem: <https://orcid.org/0000-0003-0130-077X>
Dang Van An: <https://orcid.org/0000-0003-2925-2749>
Nguyen Khac Bat: <https://orcid.org/0000-0003-2596-1994>

© B.T.T. Hien, P.T. Diem, D.V. An, N.K. Bat, 2025



Abstract.

The preservation of Vietnamese sea grapes (*Caulerpa lentillifera*) still faces major limitations due to their short shelf life and rapid deterioration of their sensory, aesthetic, and nutritional qualities. This results from commonly used NaCl brine rather than better alternative processing approaches.

This study aimed to optimize the parameters for preserving Vietnamese sea grapes. In particular, we optimized dehydration and color fixation techniques to enhance their sensory quality and shelf life.

Optimal conditions were identified as blanching at 90°C for 10 s, rapid cooling at 10–15°C, and soaking in a color-fixation solution (15% NaCl + 5% sorbitol) for 10–15 min. The treated sea grapes demonstrated a superior color quality compared to common commercial products, with the green color index of 117.93 ± 44.86 and color intensity of 94.32 ± 45.36 . Other improvements included a possible shelf life extension by 4–6 weeks, a decrease of 20–25% in spoilage rates, and a reduction of 10–15% in preservation and transportation costs. This can increase the net profit by 15–20%, as well as improve the product's efficiency and competitiveness.

The developed method extends the shelf life of Vietnamese sea grapes, reduces their spoilage, and lowers preservation costs. This enables the product to meet international quality standards, enhancing its value and competitiveness. The remaining challenges include high initial investment, temperature control, staff training, and quality control systems. Future studies should identify changes in essential nutrients under long-term real-life transportation and storage conditions.

Keywords. Seaweed, *Caulerpa lentillifera*, color fixation, thermal blanching, dehydration

Funding. This research was funded by the Ministry of Agriculture and Environment as part of the project “Research and Development of Commercial Cultivation and Processing Technologies for Economically Valuable Seaweed Species in Vietnam” (No. 101/2022/HD-KHCN-TS).

For citation: Hien BTT, Diem PT, An DV, Bat NK. Optimizing the Dehydration and Quality Preservation of Sea Grapes (*Caulerpa lentillifera*). Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):496–508. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2588>

Оптимизация технологии сушки и хранения морского винограда (*Caulerpa lentillifera*)



Бун Тхи Тху Хиен*^{ID}, Пхам Тхи Диём^{ID},
Данг Ван Ан^{ID}, Нгуен Кхак Бат^{ID}

Научно-исследовательский институт морского рыболовства, Хайфон, Вьетнам

Поступила в редакцию: 28.03.2025
Принята после рецензирования: 27.04.2025
Принята к публикации: 01.07.2025

*Бун Тхи Тху Хиен: btthien@mae.gov.vn,
<http://orcid.org/0000-0002-8146-758X>
Пхам Тхи Диём: <https://orcid.org/0000-0003-0130-077X>
Данг Ван Ан: <https://orcid.org/0000-0003-2925-2749>
Нгуен Кхак Бат: <https://orcid.org/0000-0003-2596-1994>

© Б. Т. Т. Хиен, П. Т. Диём, Д. В. Ан,
Н. К. Бат, 2025



Аннотация.

Вьетнамский морской виноград (*Caulerpa lentillifera*), также известный как каулерпа чечевицеобразная, относится к скоропортящимся продуктам: в процессе транспортировки и хранения быстро теряет свои органолептические свойства и пищевую ценность. Для сохранения вкусовых качеств и товарного вида морского винограда традиционно используется раствор поваренной соли, однако существуют и альтернативные, более эффективные методы. Цель данного исследования – оптимизировать параметры консервирования вьетнамского морского винограда, в частности методы сушки и сохранения цвета, для улучшения органолептических свойств и продления срока хранения.

Оптимальной технологией обработки морского винограда оказалось бланширование в течение 10 с при температуре 90 °С с последующим быстрым охлаждением до 10–15 °С и замачиванием в растворе (15 % NaCl + 5 % сорбита) на 10–15 мин для фиксации цвета. Обработанный таким способом морской виноград сохранял цвет лучше, чем его коммерческие образцы: индекс зеленого цвета опытного образца составил $117,93 \pm 44,86$, а интенсивность – $94,32 \pm 45,36$. Удалось продлить срок годности опытного образца на 4–6 недель и снизить показатели порчи на 20–25 %. Разработанная технология сушки позволит сократить расходы на хранение и транспортировку морского винограда на 10–15 % и увеличить чистую прибыль на 15–20 %, что существенно улучшит конкурентные качества продукта.

Представленный в данной статье метод дает возможность продлить срок годности вьетнамского морского винограда, сохранить органолептические свойства и понизить расходы на его хранение и транспортировку. Технология позволяет получить продукт, соответствующий международным стандартам качества, что существенно повысит его ценность и конкурентоспособность на рынке. Нерешенными остались проблемы высоких первоначальных инвестиций, контроля температуры, обучения персонала и поддержания системы контроля качества. В будущем предстоит провести тщательный анализ изменений, которые претерпевает питательный состав морского винограда в условиях длительной транспортировки и хранения.

Ключевые слова. Морские водоросли, *Caulerpa lentillifera*, фиксация цвета, термическое бланширование, сушка

Финансирование. Данное исследование проводилось при финансовой поддержке Министерства сельского хозяйства и окружающей среды Вьетнама в рамках проекта «Исследование и разработка новых технологий коммерческого выращивания и переработки экономически ценных видов морских водорослей Вьетнама» (№ 101/2022/HD-KHCN-TS).

Для цитирования: Хиен Б. Т. Т., Диём П. Т., Ан Д. В., Бат Н. К. Оптимизация технологии сушки и хранения морского винограда (*Caulerpa lentillifera*). Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 496–508. (На англ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2588>

Introduction

Sea grapes (*Caulerpa lentillifera*) are a tropical seaweed species with high nutritional and economic value. They are rich in compounds such as vitamin A, B-complex vitamins, vitamin C, polyphenols, essential fatty acids (EPA, DHA), and trace minerals such as iodine, iron, and calcium [1–3]. However, these critical com-

pounds (particularly chlorophyll, vitamin A, and iodine) are highly susceptible to degradation or significant loss during processing and storage, which directly affects the product's color, texture, and nutritional value [3, 4].

In Viet Nam, sea grapes are mainly cultivated in the south-central coastal provinces such as Khanh Hoa and Phu Yen, with an annual production of around

180,000 tons (Fisheries Sector Summary Report, Ministry of Agriculture and Rural Development, 2023). Despite this potential, the quality of Vietnamese sea grapes still faces major limitations. After only 3–4 weeks of storage using traditional methods (saturated NaCl brine), the product significantly loses its crispness, fades from vibrant green to yellow, and becomes less competitive in premium markets such as Japan, South Korea, and Europe. Economic losses are estimated at millions of USD annually due to reduced commercial value and brand reputation [5].

Improving preservation techniques for sea grapes has become an urgent necessity, not only to reduce post-harvest losses but also to enhance the global competitiveness of Vietnamese seaweed products. The main reason behind the rapid deterioration lies in the conventional use of high-concentration NaCl brine. This preservation technique causes cellular shrinkage, disrupts the bound water structure inside the cells, and accelerates chlorophyll degradation into pheophytin under the influence of Na^+ and Cl^- ions. This not only reduces the vitamins and iodine contents but also leads to drastic changes in the sensory qualities and nutritional value [6, 7].

Previous studies have shown that enzymes such as polyphenol oxidase, which catalyzes the oxidation of phenolic compounds into brown pigments, and peroxidase, which promotes hydrogen peroxide degradation and damages cell structure, accelerate oxidation and discoloration, ultimately degrading the product's quality [8, 9]. International research by Wanida *et al.* [3] and Satmalee *et al.* [9] demonstrated the effectiveness of thermal blanching in deactivating these enzymes and thereby better preserving the cell structure and color. Sorbitol, a polyol with strong water-binding properties, has also been shown to significantly improve water retention and stabilize food cell structures during preservation processes [10]. However, most previous studies applied these techniques independently, lacking a comprehensive, optimized combination of thermal blanching and sorbitol treatment parameters for *C. lentillifera* such as blanching temperature, blanching time, and solution concentration.

Our study aimed to develop an optimized preservation process for sea grapes by combining thermal blanching and sorbitol-enhanced color fixation techniques. This approach was expected to prolong shelf life, improve sensory qualities, and minimize nutritional losses, thereby meeting the international food quality standards and boosting the export value of Vietnamese sea grapes.

We proposed a technical process based on the preliminary experiments and existing scientific evidence. In particular, blanching at 90°C for 10–15 s was selected due to its effectiveness in inactivating polyphenol oxidase and peroxidase while maintaining the optimal cell integrity. Similarly, a preservation solution of 15% NaCl and 5% sorbitol was identified as the optimal ratio to preserve the cellular structure, minimize the loss of

bound water, and retain the key nutrients in sea grapes. Our hypothesis was that applying these conditions in tandem might improve the structural recovery of sea grapes to over 90% and maintain the stable color indicators (CIE Lab or RGB) for a minimum storage duration of six months.

Our results address the urgent challenge of preservation and contribute to enhancing the competitiveness of Viet Nam's sea grape industry in the global markets. Their practical significance is in helping Vietnamese enterprises meet the international standards such as Codex Alimentarius, Japan's JAS, and the EU's food safety regulations, thereby boosting the export value and fostering sustainable development in the seaweed sector.

Study objects and methods

Study objects. Fresh sea grapes (*Caulerpa lentillifera*) were supplied by the DT Food Company, Nha Trang, Khanh Hoa, Viet Nam. The raw materials were harvested and transported to the laboratory within 24 h using specialized refrigerated vehicles, maintaining a constant temperature of 4°C and avoiding direct light exposure to ensure quality. Material selection criteria included: upright stem length > 6 cm, natural green color, no bruising, intact beads, characteristic marine odor, and moisture content of $95 \pm 1\%$. The chlorophyll content was determined by spectrophotometry based on the Lichtenthaler method (1987), using 80% acetone solvent and measuring at wavelengths of 663 and 645 nm, yielding 1.2 ± 0.05 mg/g [4]. The iodine content was analyzed using the AOAC 992.24 standard method, with a result of 25 ± 1 mg/kg [5].

Supplementary materials. Table salt (NaCl) met the National Technical Regulation (Circular No. 08/2021/TT-BNNPTNT); sorbitol conformed to Vietnamese Standard TCVN 6465:2008.

Research methods. Blanching and rapid cooling procedure. Sea grapes were blanched in a 5% diluted NaCl solution at a seaweed-to-solution ratio of 1:10 (w/v) at various temperatures (80, 85, 90, and 95°C) for durations of 5, 10, 15, and 20 s to inactivate polyphenol oxidase and peroxidase enzymes, based on the prior seaweed heat treatment studies [4, 6]. Immediately after blanching, the samples were rapidly cooled by immersing in an ice-water bath at a water-to-seaweed volume ratio of 5:1. The temperature was maintained between 10–25°C by continuously adding ice over a 3-min period to effectively terminate the enzyme reaction, as determined from the preliminary trials.

Color fixation treatment. The color fixation solution consisted of NaCl (10, 15, and 20%) combined with 5% sorbitol. The sea grapes were soaked in the solution at a 1:1 solution-to-seaweed ratio for 5, 10, 15, and 20 min, based on the preliminary experiments and studies on solution diffusion into seaweed cells [5, 6].

Color analysis. Images of the sea grape samples were taken using a Cannon IXY Digital 510IS camera

(12.1 megapixels, Tokyo, Japan). The samples were placed on a black background at a fixed distance of 30 cm from the camera, ISO 100, with fixed focal length. Prior to analysis, color standardization was performed using an X-Rite ColorChecker and the white balance tool in Image J software (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA). The analysis parameters included color intensity, as well as red, green, and blue values.

Structural recovery assessment. A 10 g portion of fully dehydrated sea grape samples ($m_1 = 10$ g) was soaked in 100 ml of distilled water at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) for 10 min without stirring. The samples were then removed, blotted dry with Whatman No.1 filter paper for 5 min, and weighed again to determine the post-rehydration mass (m_2). Structural recovery (H , %) was calculated using the formula:

$$H = \frac{m_2 - m_1}{m_1}$$

where m_1 is the initial weight of the dehydrated sea grape sample (fixed at 10 g) and m_2 is the weight after rehydration and blotting.

Sensory evaluation. Before sensory evaluation, the sea grape samples were rehydrated by soaking in distilled water at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) for 10 min

and then blotted dry with Whatman No.1 filter paper for 5 min. Each sample was weighed precisely at 5 g and placed on a clean white porcelain dish coded randomly with three-digit numbers to prevent bias. A panel of 10 experts with at least 5 years of experience and training according to ISO 8586:2012 standards evaluated the samples in a temperature-controlled room ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) with standardized lighting. The average scores from their independent assessments were calculated based on the following criteria and weighting coefficients: Color (1.2), Odor (0.8), Taste (1.0), and Texture (1.0), as detailed in Table.

Data processing. All the experiments were conducted in triplicate. The results were presented as mean $\pm$ standard deviation ($M \pm SD$). The data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's HSD test at a significance level of $p < 0.05$. Statistical analyses were performed using IBM SPSS software version 26 and Image J (Fig. 1).

Results and discussion

Optimizing the dehydration process for sea grapes.

Blanching temperature. We studied the effects of blanching temperature (80, 85, 90, and 95°C) on the structural recovery and color stability of sea grapes (*Caulerpa lentillifera*) (Figs 2 and 3).

Table. Sensory evaluation scoring for dehydrated sea grapes (*Caulerpa lentillifera*)

Таблица. Органолептическая оценка высушенного морского винограда (*Caulerpa lentillifera*)

Criterion	Raw Score	Description	Coefficient
Color	5	Deep green; after soaking, very similar to fresh seaweed	1.2
	4	Deep green; fairly similar to fresh seaweed	
	3	Slightly pale green; somewhat lighter than fresh seaweed	
	2	Pale green; very light after soaking	
	1	Very pale green with white spots; unevenly green after soaking	
	0	Extremely pale, nearly whitish; losing green color after soaking	
Odor	5	Very mild seaweed aroma, no off-smell; retaining characteristic scent after soaking	0.8
	4	Mild seaweed smell; fairly characteristic after soaking	
	3	Noticeable seaweed smell; retaining core scent	
	2	Lacking distinct aroma, with some slight unfamiliar smell	
	1	Losing seaweed scent, with strong off-odor	
	0	No characteristic aroma, with unpleasant foreign odor	
Taste	5	Strong characteristic flavor of fresh sea grapes; well-retained after soaking	1.0
	4	Characteristic sea grape flavor	
	3	Mildly noticeable characteristic flavor	
	2	Very weak sea grape taste	
	1	No recognizable sea grape flavor	
	0	Overly salty or unpleasant off-flavor, spoiled product	
Texture	5	Intact, crisp strands; evenly rehydrated; swelling back to near-original state after soaking	1.0
	4	Intact and crispy; relatively evenly rehydrated; swelling back quite well	
	3	Partially broken, less crispy, unevenly rehydrated; with some beads detached after soaking	
	2	Broken and soft strands, not disintegrated; minimal swelling, minor bead loss	
	1	Severely broken, partially fragmented strands; poorly rehydrated	
	0	Fully broken, powdery, with no swelling capability	

Note: Evaluation framework based on TCVN 14142:2024 and TCVN 3215:79, adjusted for product relevance.

Примечание: Оценка проводилась на основе скорректированных Национальных Стандартов TCVN 14142:2024 и TCVN 3215:79.

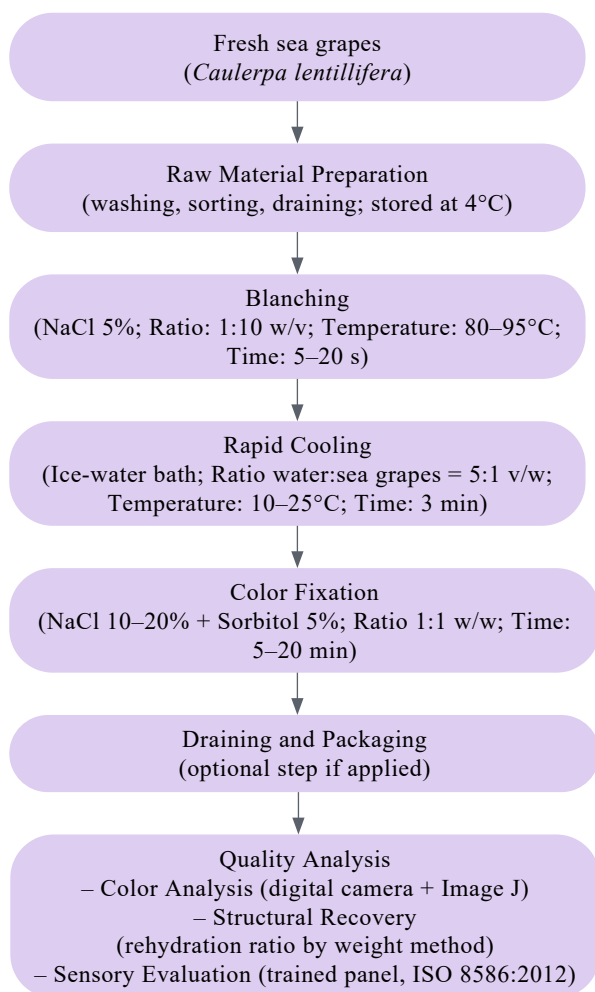
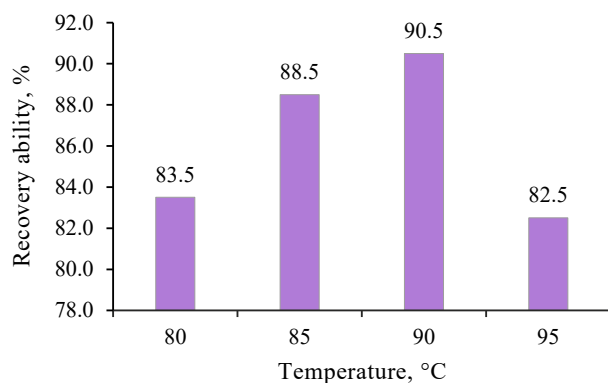


Figure 1. Flowchart of research procedure

Рисунок 1. Схема исследования


Figure 2. Effect of blanching temperature (80–95°C) on the structural recovery of *Caulerpa lentillifera*.

The values represent $M \pm SD$ ($n = 3$).
(Visuals: 80 → 85 → 90 → 95°C)

Рисунок 2. Зависимость структурного восстановления морского винограда (*Caulerpa lentillifera*) от температуры бланширования (80–95 °C): средние значения $\pm$ стандартное отклонение ($n = 3$); температура бланширования – 80 → 85 → 90 → 95 °C

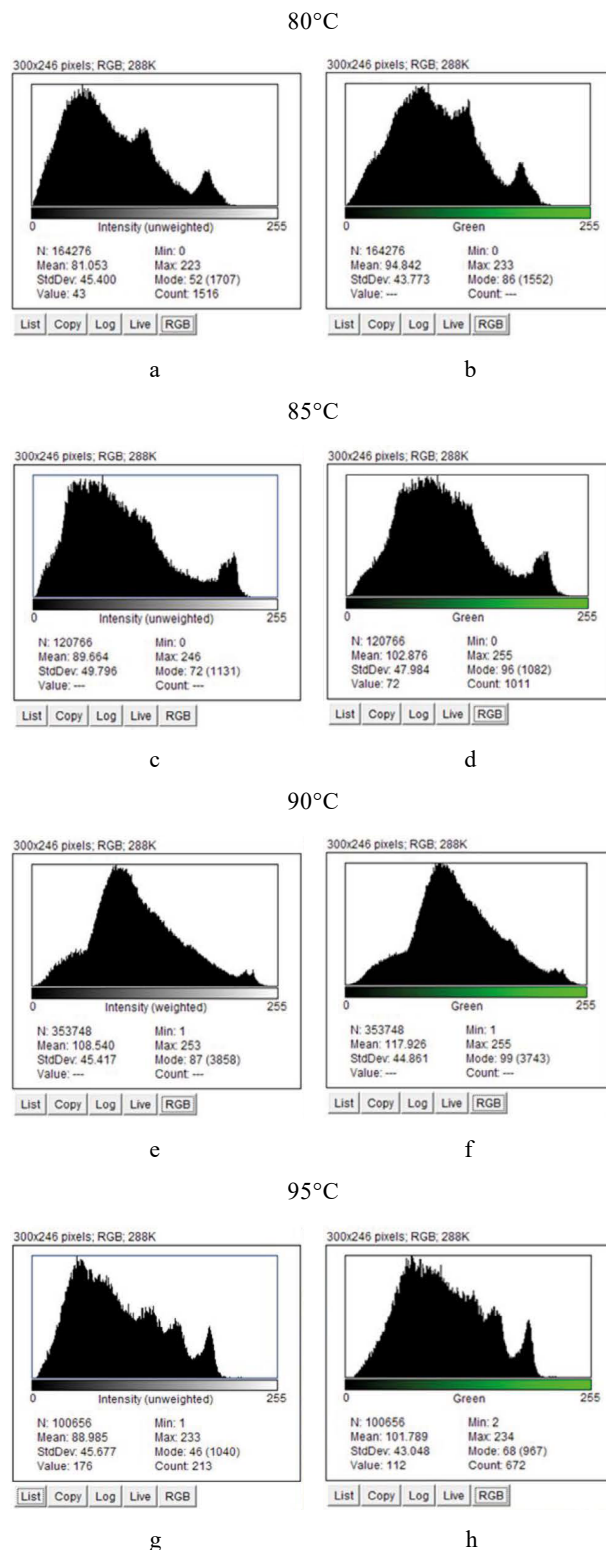

Figure 3. Histogram (Image J) illustrating the effect of blanching temperature (80, 85, 90, and 95°C) on color intensity and green index of dehydrated *Caulerpa lentillifera*

Рисунок 3. Гистограмма (J) зависимости интенсивности и индекса зеленого цвета в образцах высушенного морского винограда (*Caulerpa lentillifera*) от температуры бланширования (80, 85, 90, 95 °C)

According to Fig. 2, the structural recovery of sea grapes increased significantly as the blanching temperature rose from 80°C (81.67%) to 90°C (90.87%), before dropping to 82.37% at 95°C. One-way ANOVA and Tukey's HSD test ($p < 0.05$) confirmed that the structural recovery at 90°C was significantly different compared to the other temperature levels. This is because 90°C offers an effective balance between water removal and enzyme inactivation without causing excessive damage to the cellular structure of sea grapes.

The color intensity and the green index were quantified using digital image analysis with Image J software (Fig. 3). At a blanching temperature of 90°C, the color intensity and the green index reached their peak values of 108.54 (Fig. 3e) and 117.93 (Fig. 3f), respectively. In contrast, 80°C yielded lower values of 81.05 and 94.84, respectively (Fig. 3a and b), while 85°C resulted in 89.55 and 102.88, respectively (Fig. 3c and d). The excessively high blanching temperature of 95°C caused structural damage and accelerated the conversion of chlorophyll into pheophytin. This significantly reduced the color indicators to 88.99 (Intensity) and 101.79 (Green) (Fig. 3g and h). According to previous research [7], temperatures above 90°C rapidly displaced Mg^{2+} ions from the chlorophyll molecule, converting it into pheophytin and leading to chlorophyll pigment instability.

Furthermore, our results indicated a strong correlation between structural recovery and color stability. The optimal blanching temperature of 90°C effectively preserved cellular structure, thereby minimizing chlorophyll loss and maintaining the characteristic green color of the sea grapes.

Although we did not directly measure the activity of polyphenol oxidase and peroxidase, prior studies [8, 9] support that 90°C is sufficient for effective inactivation of these oxidative enzymes. While the referenced studies were conducted on carrots [8] and *Ulva rigida* [9], the effect of heat treatment on the cell structure and pigment degradation was comparable, providing a sound explanation for our results with *C. lentillifera*.

The optimal blanching temperature of 90°C not only enhanced the product quality control but also improved the structural recovery and color stability of sea grapes. This significantly extended the product's shelf life and fulfilled the stringent quality requirements of the demanding markets such as Japan, South Korea, and Europe.

Blanching time. After preliminary processing and cleaning, the fresh sea grape samples were blanched for 5, 10, 15, and 20 s to evaluate the time's effect on their structural recovery and color stability (Figs 4 and 5).

Our results indicated that the highest structural recovery (90.77%) was achieved at a blanching time of 10 s (Fig. 4). Compared to this optimal duration, the structural recovery at a shorter blanching time (5 s) decreased by 12.88%, while longer durations (15 and 20 s) showed respective decreases of 4.46 and 6.85%. These differences

were statistically significant, as confirmed by one-way ANOVA with Tukey's HSD test ($p < 0.05$).

The color intensity and the green index were analyzed using standardized digital imaging processed with Image J software (National Institutes of Health, USA) under consistent photographic and color calibration conditions described in the Methods section (Fig. 5). The blanching time of 10 s yielded the highest values of 104.78 for color intensity and 117.02 for the green index. These values decreased markedly at other blanching times reaching 83.21 and 95.71 at 5 s, 86.25 and 103.41 at 15 s, and only 77.00 and 92.92 at 20 s, respectively.

This phenomenon is attributed to the role of blanching in deactivating polyphenol oxidase (PPO), the enzyme primarily responsible for oxidizing phenolic compounds and forming pigments that destabilize chlorophyll. A blanching time of 10 s appears sufficient for optimal PPO inactivation, thereby protecting chlorophyll and maintaining color stability. Although we did not directly measure PPO activity, our results align with those in [8], where blanching times under 10 s were inadequate for complete enzyme inactivation, reducing the effectiveness of pigment and structural preservation. In contrast, longer blanching times (15–20 s) resulted in protein denaturation and excessive pectin solubilization in the cell membranes. This caused serious structural damage, reduced bound water retention, and accelerated chlorophyll conversion to pheophytin. These findings support prior observations regarding thermal over processing and plant cell damage [7].

Our results clearly reveal a correlation between structural recovery and color stability, suggesting that stable cellular structure is crucial for preserving chlorophyll in sea grapes. The optimal blanching time of 10 s found in

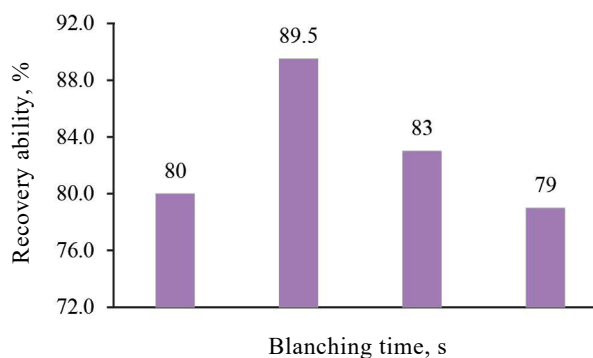


Figure 4. Effect of blanching time (5–20 s at 90°C) on the structural recovery of *Caulerpa lentillifera*. The values are expressed as $M \pm SD$ based on three experimental replicates ($n = 3$).

(Visuals: Blanching time 5 → 10 → 15 → 20 s)

Рисунок 4. Зависимость структурного восстановления морского винограда (*Caulerpa lentillifera*) от продолжительности бланширования (5–20 с; 90 °С): среднее значение $\pm$ стандартное отклонение ($n = 3$); время бланширования – 5 → 10 → 15 → 20 с

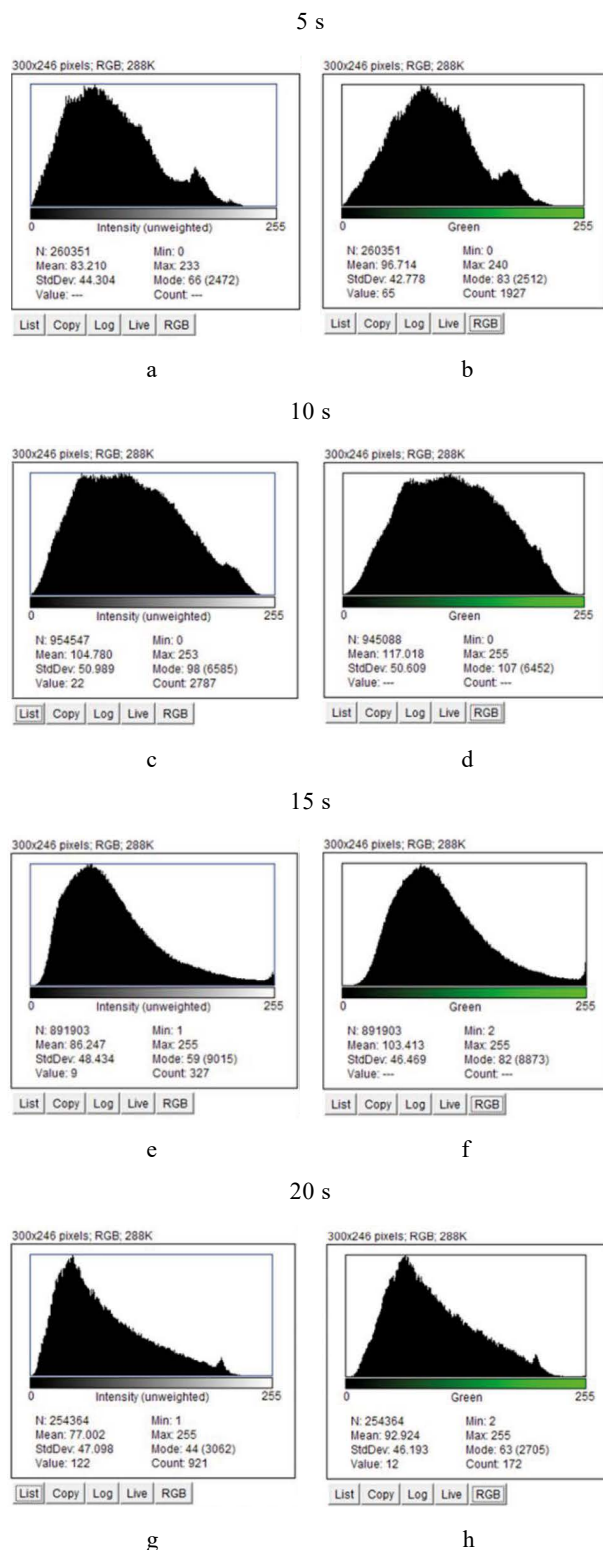


Figure 5. Histogram (Image J) showing the effect of blanching time (5, 10, 15, and 20 s) on color intensity and green index of dehydrated sea grapes. The values are the average of three independent replicates ($n = 3$)

Рисунок 5. Гистограмма (J) зависимости интенсивности и индекса зеленого цвета высушенного морского винограда (*Caulerpa lentillifera*) от продолжительности бланширования (5, 10, 15, 20 с): среднее значение ($n = 3$)

our study is consistent with previous research on freeze-dried *C. lentillifera* [4]. In the referenced study, 10 s was sufficient for inactivating polyphenol oxidase without notable cellular damage.

The optimal blanching time of 10 s enabled maximal preservation of both structure and color, extending the shelf life of sea grapes by at least several weeks, compared to the products treated for suboptimal blanching durations. This aligns with earlier research [2] confirming that optimal blanching conditions significantly enhance the commercial storage period of sea grapes. Furthermore, proper blanching time helps reduce product spoilage during storage and export transportation. This improves the product's commercial value and economic efficiency, while fulfilling strict international quality standards required by the export markets such as Japan, South Korea, and Europe.

Post-blanching treatment of sea grapes. The immediate cooling of blanched sea grapes induces a rapid temperature shift, which prevents the rupture of the cell structure caused by prolonged high temperatures. Additionally, this step allows the cells to contract, thereby reducing the loss of water-soluble nutrients. The results of the post-blanching rinsing are presented in Fig. 6.

One-way ANOVA combined with Tukey's test ($p < 0.05$) showed that the rinsing temperature significantly influenced the sensory quality (especially crispness and chewiness) of the final sea grape product. The sensory scores were evaluated on a 20-point scale by a panel of 10 trained experts in accordance with ISO 8586:2012 standards. Notably, the lower the rinsing temperature, the better the sensory quality observed. At rinsing temperatures of 10 and 15°C, the sea grapes achieved the highest sensory scores of 17.58 and 17.39 points, respectively.

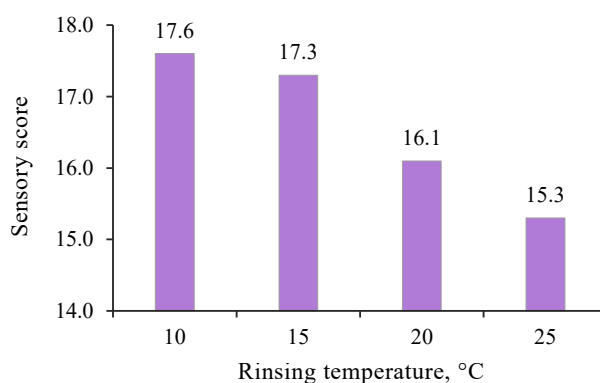


Figure 6. Effect of post-blanching rinsing temperature (10–25°C) on the sensory quality (crispness, chewiness) of *Caulerpa lentillifera*. The values are presented as $M \pm SD$ from three experimental replicates ($n = 3$)

Рисунок 6. Зависимость органолептических показателей морского винограда (*Caulerpa lentillifera*) от температуры ополаскивания после бланширования (10–25 °C) (хрусткость, разжевываемость): среднее значение $\pm$ стандартное отклонение ($n = 3$)

In contrast, at a rinsing temperature close to ambient conditions (25°C), the score significantly declined to 15.20 points.

This might be because blanching at high temperatures (e.g., 90°C) followed by sudden cooling to low temperatures (10–15°C) greatly reduces the kinetic energy of molecules. This slowdown or inhibition of chemical reactions prevents the release of Mg^{2+} ions from the chlorophyll molecule and avoids excessive denaturation of proteins and pectin [7]. Consequently, chlorophyll is more effectively preserved rather than converted to pheophytin. The rinsing temperature of 10°C maintained maximum color intensity and green index at 98.33 and 110.74, respectively. In contrast, these values dropped significantly at 25°C, with the intensity at 86.88 and the green index at 104.02.

Furthermore, low temperatures help retain intracellular bound water, minimizing the loss of water-soluble nutrients such as vitamins and minerals. This preserves the crisp and chewy texture of the product, keeping it close to that of fresh material. On the other hand, rinsing at near-room temperature (25°C) slows the cooling process, prolonging oxidative reactions and protein / pectin denaturation in the cell membrane. This results in significant cellular damage, a lower water retention capacity, and a substantial loss of texture quality [8].

However, to further confirm the protective effects of this technique on nutrients and pigmentation, the study should include additional analysis of vitamin contents and other key nutrients. Furthermore, storage duration and economic efficiency should be assessed through practical shelf-life simulations and cost-benefit analyses.

These findings are consistent with previous studies on *C. lentillifera*, confirming that rapid post-blanching temperature changes are optimal for preserving the cell structure and sensory qualities in seaweed products [2, 4]. Applying an optimized rinsing temperature of 10–15°C can extend the shelf life by several weeks, compared to room-temperature rinsing. In addition, this temperature range can reduce spoilage during storage and transportation, thereby enhancing the commercial value and competitiveness of the product in the demanding international markets of Japan, South Korea, and Europe.

Optimizing the color fixation solution. The concentration of the color fixation solution. The effects of the immersion solution concentration (NaCl combined with sorbitol) on the color fixation capacity of sea grapes are presented in Fig. 7.

One-way ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$) confirmed the statistically significant differences in both the color intensity and the green index between the treatment using 15% NaCl + 5% sorbitol and the other two treatments (10 and 20% NaCl). Specifically, the highest color intensity (98.33; SD = 51.363) and green index (110.74; SD = 51.474) were achieved with the 15% NaCl + 5% sorbitol solution. However, the relatively high standard deviations indicate potential errors during image cap-

ture and analysis, suggesting a need to improve image standardization or increase the number of replicates for more consistent results.

At a lower NaCl concentration (10%), the color intensity and the green index were significantly lower at 92.32 and 104.84, respectively. This may be attributed to insufficient osmotic pressure to effectively remove free water from the cells. This in turn leads to incomplete inhibition of the polyphenol oxidase enzyme and continued oxidation of chlorophyll, compromising the

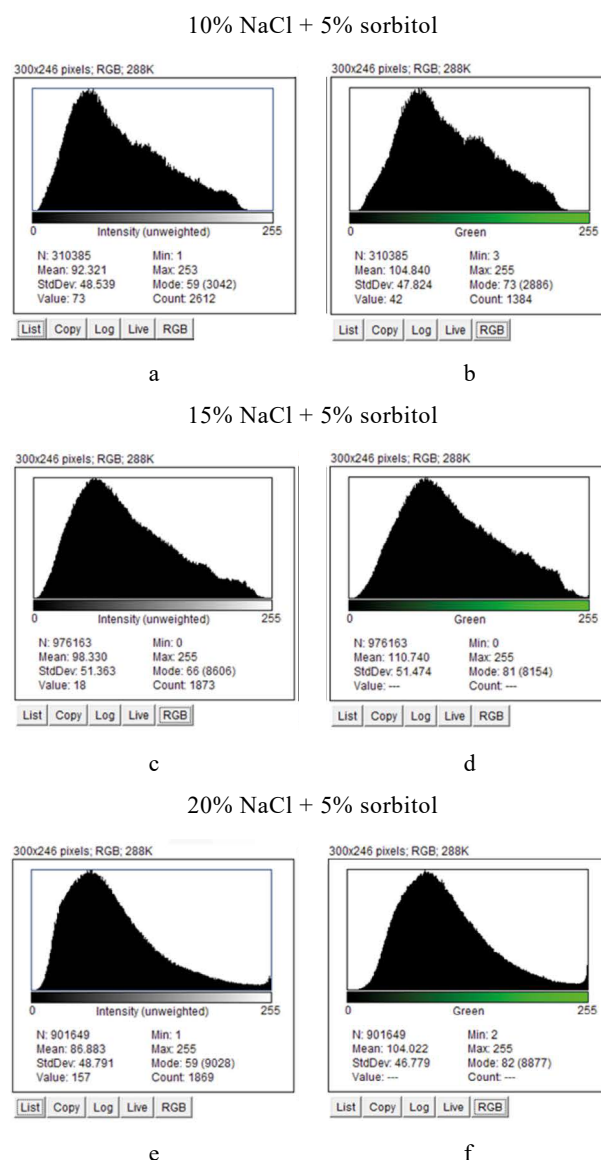


Figure 7. Effect of color fixation solution concentrations (10–20% NaCl + 5% sorbitol) on the color fixation capacity of *Caulerpa lentillifera* (Image J). The values are presented as $M \pm SD$ from three independent replicates ($n = 3$)

Рисунок 7. Зависимость качества цвета морского винограда (*Caulerpa lentillifera*) (J) от концентрации раствора (10–20% NaCl + 5% сорбита): среднее значение $\pm$ стандартное отклонение ($n = 3$)

color retention capacity of the sea grapes [1, 2]. Conversely, at a higher NaCl concentration (20%), excessively high osmotic pressure caused a severe loss of bound water, resulting in significant cellular damage and rapid removal of Mg^{2+} ions from the chlorophyll molecule. This accelerated the conversion of chlorophyll into pheophytin, reducing the color intensity and the green index to 86.88 and 104.02, respectively [3, 4].

The selection of 5% sorbitol concentration was based on the preliminary trials and prior studies, confirming that this level provides an optimal balance between water retention and cellular structure stabilization without causing structural damage due to excessive osmotic stress [2]. Sorbitol, a polyol containing multiple hydroxyl groups, forms strong hydrogen bonds with intracellular water in sea grapes, thereby stabilizing bound water and effectively preventing excessive shrinkage or cellular damage during dehydration. As a result, the sea grapes retain their crispness, chewiness, and vibrant color [5].

The optimized fixation solution (15% NaCl + 5% sorbitol) not only stabilizes color and structure but also extends the shelf life of the product by at least 4–6 weeks under refrigerated conditions. In addition, it significantly reduces spoilage rates during transportation and storage by approximately 20–30%. This in turn leads to cost savings, improved profitability, and better compliance with the strict international export standards such as Codex Alimentarius, Japan's JAS, and EU food safety regulations [2, 6].

The time of immersion in the color fixation solution.

We investigated the effect of different times (5, 10, 15, and 20 min) of immersion in the color fixation solution (15% NaCl + 5% sorbitol) on the color retention ability of *C. lentillifera* (Fig. 8).

The highest color intensity values were recorded at 10 min (107.664 ± 52.834) and 15 min (115.965 ± 49.831) of immersion. Similarly, the green index reached its optimal levels at these durations, with 124.673 ± 53.649 and 126.173 ± 50.128 , respectively. However, the standard deviation (Stdev) was relatively high ($\sim 50\%$ of the mean), which might be due to uncontrolled lighting and camera angle during image capture. To address this issue, the research team recommended using a professional photography box to ensure consistent lighting, distance, and angle to reduce analytical error.

One-way ANOVA and Tukey's HSD test ($p < 0.05$) revealed that the immersion times of 10 and 15 min produced statistically significant differences compared to shorter (5 min) and longer (20 min) immersion times. Specifically, a short immersion time of 5 min resulted in a lower color intensity of 105.726 (8.8% lower than at 15 min), and a lower green index of 120.807 (4.3% lower). On the other hand, the 20-min immersion led to the sharpest decrease in color retention, with the color intensity dropping to 85.021 (26.7% lower than at 15 min) and the green index falling to 111.698 (11.5% lower).

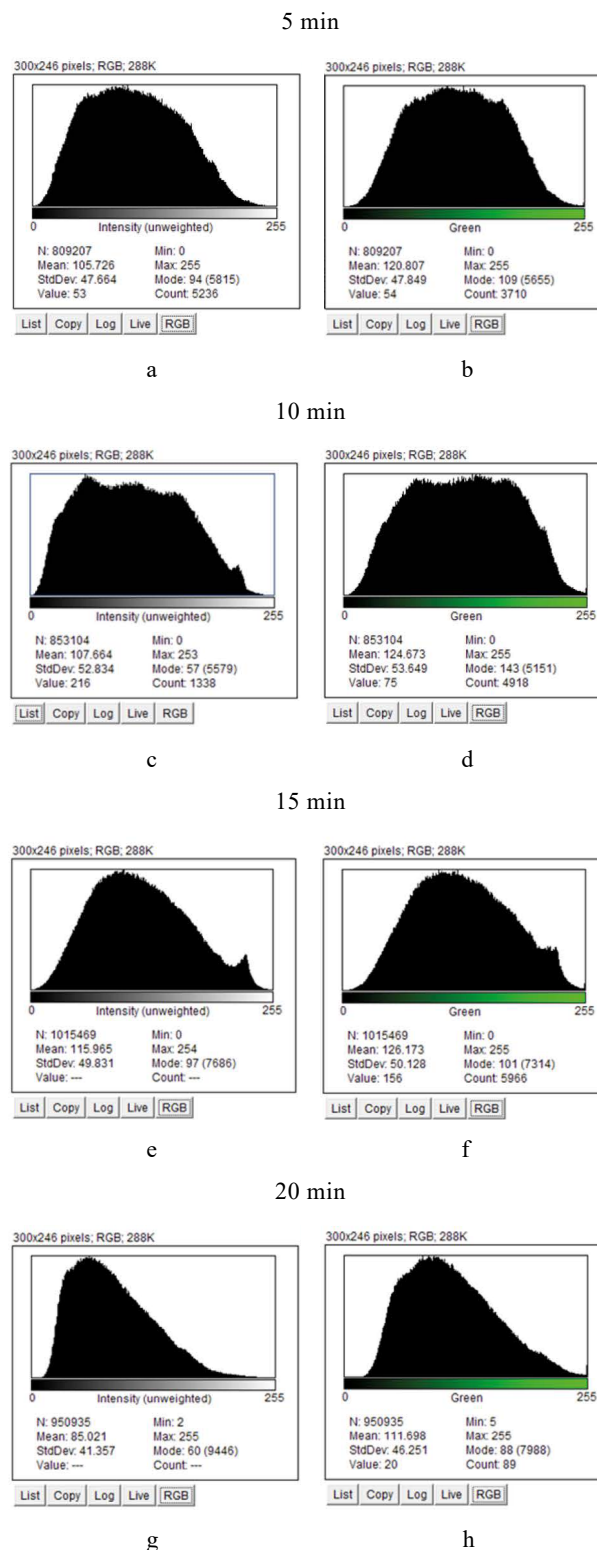


Figure 8. Effect of the time of immersion in the color fixation solution (5, 10, 15, and 20 min) on the color retention of *Caulerpa lentillifera* (Image J). The values represent $M \pm SD$ from three independent replicates ($n = 3$)

Рисунок 8. Зависимость качества цвета морского винограда (*Caulerpa lentillifera*) (J) от времени погружения в раствор (5, 10, 15, 20 мин): среднее значение $\pm$ стандартное отклонение ($n = 3$)

The short immersion time (5 min) was insufficient for the NaCl and sorbitol solution to fully penetrate the cellular structure, preventing the achievement of optimal osmotic equilibrium. As a result, a high level of free water remained within the cells, allowing polyphenol oxidase enzymes to remain active and promote oxidation of chlorophyll pigments. Conversely, prolonged immersion (20 min) resulted in excessive dehydration due to high osmotic pressure, significantly damaging cell membranes. This structural damage accelerated the hydrolysis of Mg^{2+} from chlorophyll, converting it into pheophytin and thus markedly reducing color retention efficiency [11]. Our preliminary experiments indicated that the optimal immersion time to achieve effective penetration and osmotic equilibrium without damaging cell structure was between 10–15 min. This finding is consistent with earlier studies by Nguyễn Thị Mỹ Trang and Vũ Ngọc Bội [2] and Hoàng Thái Hà [4], which demonstrated similar impacts of immersion duration on cellular integrity, chlorophyll stability, and overall product quality.

The choice of 5% sorbitol was based on preliminary research, confirming that this level provides an optimal balance between water retention, textural preservation, and minimization of cell shrinkage or deformation. This concentration proved superior compared to both higher (7–10%) and lower (3%) concentrations. These findings align with those of Nguyễn Thị Mỹ Trang and Vũ Ngọc Bội [2], who also identified an optimal immersion time of 10–15 min for preserving the quality of *C. lentillifera*.

Based on this study and previous findings, the optimal immersion time of 15 min is expected to extend the shelf life of sea grapes by 4–6 weeks and reduce spoilage rates by ~ 25–30%. This improvement could lead to 15–20% savings in total preservation and transportation costs, thereby enhancing the economic efficiency and international market competitiveness of the product.

Comparative analysis of color quality between the experimental and the commercial dehydrated sea grape products. The color quality of the final sea grape pro-

duct was analyzed and compared with that of two commercial dehydrated sea grape products commonly available on the market, Tri Tin and D&T. Three independent samples of each brand were randomly collected from the local markets at the time of the study to ensure objectivity and representativeness. They were analyzed by using Image J software (Figs 9 and 10).

The findings showed that the green index of the final product reached 117.926 ± 44.861 , which was significantly higher than that of the commercial dehydrated samples (99.629 ± 45.621). Similarly, the color intensity of the experimental product was considerably higher than that of the commercial counterparts, recorded at 94.321 ± 45.362 and 84.764 ± 46.543 , respectively. However, high standard deviations (~ 40–50% of the mean) suggested potential inconsistencies in the analysis conditions. Therefore, to enhance reliability and result consistency, we used professional imaging equipment and implemented strict control over the lighting conditions, camera angles, and sample standardization.

Statistical analysis using an independent sample *t*-test ($p < 0.05$) confirmed statistical significance of the green index and color intensity differences between the experimental and commercial products.

These results were due to the new technical solution that we employed to simultaneously optimize the key processing parameters, including blanching temperature (90°C), blanching duration (10–15 s), color fixation solution concentration (15% NaCl + 5% sorbitol), and optimal immersion time (15 min). These conditions preserved the cellular structure and effectively minimized oxidation of chlorophyll-a, the primary pigment responsible for the characteristic green color, while auxiliary pigments (chlorophyll-b, carotenoids) showed no significant improvement.

Our findings are consistent with those in [2, 4], both of which emphasized that optimizing the treatment conditions-temperature, solution composition, and immersion time-plays a critical role in preserving chlorophyll-a.

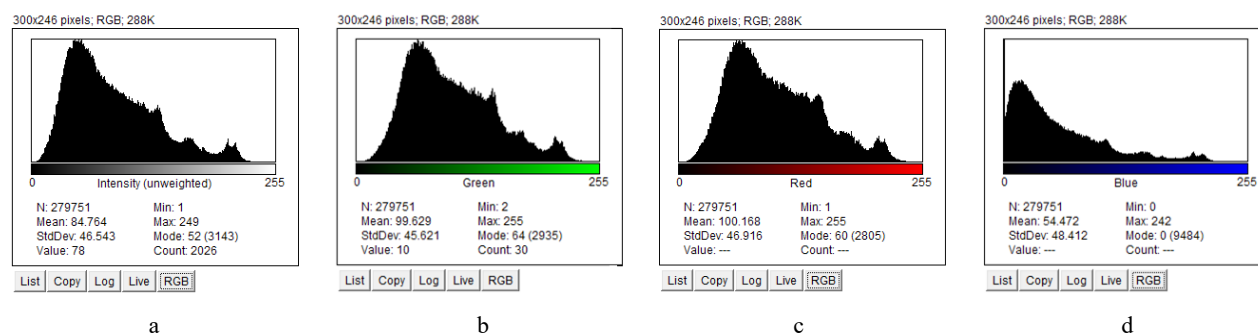


Figure 9. Color intensity (a), green (b), red (c), and blue (d) indices of the commercial dehydrated sea grapes Tri Tin and D&T (Image J). The values represent the $M \pm SD$ from three independent replicates ($n = 3$)

Рисунок 9. Интенсивность цвета (а), а также индексы зеленого (б), красного (с) и синего (д) коммерческих образцов высушенного морского винограда (*Caulerpa lentillifera*) брендов “Tri Tin” и “D&T” (J): среднее значение $\pm$ стандартное отклонение ($n = 3$)

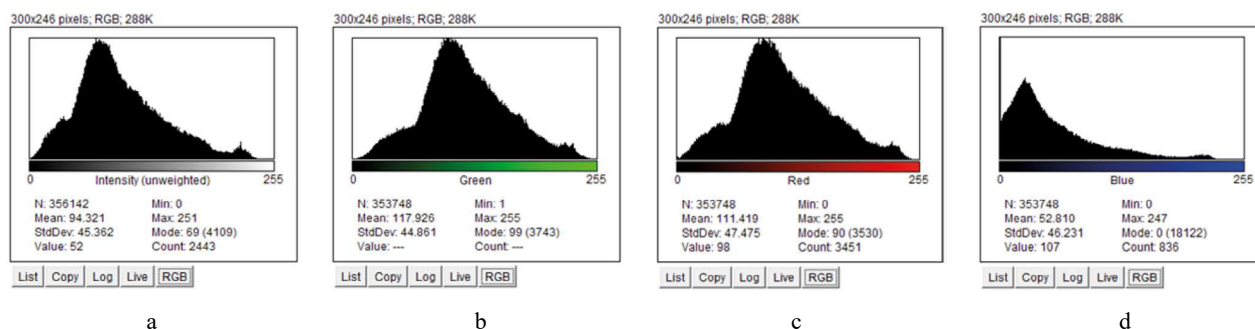


Figure 10. Color intensity (a), green (b), red (c), and blue (d) indices of the final product after dehydration and color fixation (Image J). The values represent the $M \pm SD$ from three independent replicates ($n = 3$)

Рисунок 10. Интенсивность цвета (а), а также индексы зеленого (b), красного (c) и синего (d) после процедур сушки и фиксации цвета (J): среднее значение $\pm$ стандартное отклонение ($n = 3$)

From a practical perspective, our results suggest that the final sea grape product may achieve an extended shelf life of 4–6 weeks, a reduction in spoilage rate by approximately 20–25%, and cost savings of 10–15% in total preservation and logistics. These improvements enhance profitability and support compliance with the strict quality standards required by the international markets.

Our study clearly demonstrates the superior effectiveness and high feasibility of the optimized technical solution for dehydration and color fixation of the sea grapes (*C. lentillifera*). Specifically, their structural recovery rate of 90.87% was significantly higher than that of the conventional commercial products (82–85%). Their green index and color intensity of 117.93 and 94.32, respectively, substantially outperformed the current commercial standards of 99.63 and 84.76, respectively. This validated the technical superiority of the optimized process. Figure 11 shows the morphology of the sea grapes before and after processing with no significant changes in freshness and appearance.

One of the key results of this study is that we determined the ideal blanching conditions (90°C for 10 s), followed by rapid cooling (10–15°C) to inactivate polyphenol oxidase and peroxidase without significantly damaging the cell structure. Unlike the studies by Goncalves *et al.* [8] on carrots (*Daucus carota* L.) and Satmalee *et al.* [9] on seaweed (*Ulva rigida*), which used longer heat treatments (3–5 min), our study was the first to demonstrate the effectiveness of ultra-short thermal processing on sea grapes. Thus, our results contribute valuable new data to the field of tropical seaweed processing.

Our study also confirmed the effectiveness of the 15% NaCl + 5% sorbitol solution. This combination was optimal due to the biochemical properties of sorbitol, a polyol with multiple hydroxyl groups capable of forming strong and stable hydrogen bonds with intracellular water. When combined with a moderate NaCl concentration (15%), the solution achieves ideal osmotic balance. This

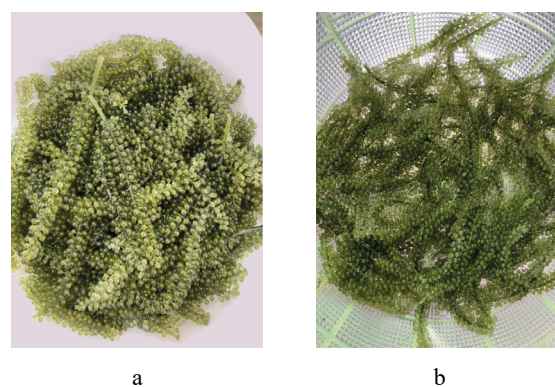


Figure 11. Sea grapes before (a) and after (b) being processed under the optimized parameters

Рисунок 11. Морской виноград до (а) и после (b) обработки по оптимизированным параметрам

balance is strong enough to facilitate reverse osmosis and water removal without causing excessive cellular damage. This maintains intracellular water balance, removes external free water, and preserves essential bound water. As a result, it prevents excessive cell shrinkage and protects chlorophyll-a, a pigment highly vulnerable to dehydration.

Our findings build upon and clarify earlier conclusions from previous studies [2, 4], which lacked detailed explanations of the interaction between sorbitol and NaCl in protecting pigments and cellular structures in sea grapes.

Our experimental product demonstrated significantly better color indices compared to the commercial sea grapes. The main reason for this improvement lies in the synchronized optimization of technical parameters. Notably, the use of high blanching temperature for a very short time (90°C for 10 s) combined with rapid cooling effectively prevented oxidation and degradation of chlorophyll-a, the key cause of discoloration in com-

mercial products. In contrast, commercial methods often use longer blanching times or suboptimal temperatures, leading to severe chlorophyll-a loss and significantly diminished sensory quality.

Despite these promising results, large-scale industrial adoption of this technology still faces several challenges. They include high initial investment in precise temperature control and rapid cooling systems, the need for consistent training of technical staff, and the development of strict quality control systems for raw material sourcing. Enterprises must carefully consider these factors and develop clear management strategies to ensure successful large-scale implementation.

To enhance reliability and practical application, future studies should focus on identifying changes in essential nutrients – such as vitamin A, vitamin C, iodine, and essential fatty acids (EPA, DHA) – under long-term storage conditions. Simulations of real-world transportation and storage conditions are also necessary to assess product stability prior to commercialization.

From an economic perspective, our study holds significant implications for sea grape producers and exporters. A 20–25% reduction in spoilage rates and 10–15% savings in total preservation and logistics costs could lead to a substantial increase of 15–20% in net profit [2, 4]. This not only improves the economic efficiency but also enhances the competitiveness of Vietnamese sea grapes in the demanding international markets such as Japan, South Korea, and Europe, where sensory quality, nutritional value, and food safety are top consumer priorities.

Conclusion

Our study established a comprehensive technical solution for optimizing the dehydration and color fixation of sea grapes (*Caulerpa lentillifera*). The optimal conditions were identified as blanching at 90°C for 10 s, followed by rapid cooling at 10–15°C, and subsequent immersion in a color fixation solution of 15% NaCl and 5% sorbitol for 10–15 min. These conditions effectively protect the cellular structure, inhibit the activity of polyphenol oxidase, and maintain high stability of chlorophyll-a pigment. Compared to the commercial dehydrated sea grape products on the market, our final product showed significant improvements in the green index and color intensity. The application of this optimized process not only extends shelf life, reduces spoilage rates, and lowers preservation costs, but also enables the product to meet the stringent international quality standards. This, in turn, enhances the export potential and global competitiveness of Vietnamese sea grapes.

Contribution

B.T.T. Hien conceptualized and designed the research, defined research objectives, performed data analysis, interpreted results, provided scientific oversight, conducted the majority of analytical experiments, and proofread the manuscript. P.T. Diem, D.V. An, and N.K. Bat

contributed to literature review, conducted additional analytical experiments, and participated in manuscript revision.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interest regarding the publication of this manuscript.

Acknowledgements

We thank the Vietnamese Ministry of Agriculture and Rural Development for the financial support and creating favorable conditions for the project “Application of bio-technology to produce some value-added products from Vietnam economic seaweed” (02/2023/HĐ-TS-CNSH).

Declaration of AI and AI-assisted technologies

Humanize AI was used in some parts of the manuscript to refine the English expressions and improve fluency. The tool was applied only for language polishing and did not generate or modify the scientific content. All AI-suggested edits were manually reviewed by the authors to ensure the accuracy and integrity of the original ideas. The use of Humanize AI did not affect the key arguments or conclusions of the manuscript.

Критерии авторства

Буи Тхи Тху Хиен разработала концепцию и методологию исследования, сформулировала цели и задачи, выполнила анализ и интерпретацию полученных данных, руководила научной частью проекта, выполнила основную часть аналитических исследований и участвовала в редактировании рукописи. Пхам Тхи Дием, Данг Ван Ан и Нгуен Кхак Бат провели анализ литературных источников, выполнили часть аналитических исследований и участвовали в редактировании рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией данной рукописи.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Министерству сельского хозяйства и сельского развития Вьетнама за финансовую поддержку и создание благоприятных условий для проекта «Биотехнологии в производстве продуктов с добавленной стоимостью из водорослей Вьетнама» (02/2023/HĐ-TS-CNSH).

Декларация использования ИИ

Авторы заявляют об использовании текстового конвертера “Humanize AI” в целях создания лингвистической аутентичности английского текста. Обработка ни коим образом не затронула научное содержание статьи, а также ключевые аргументы или выводы, а все предложенные ИИ правки проверялись авторами вручную.

References

1. Paul NA, Neveux N, Magnusson M, de Nys R. Comparative production and nutritional value of “sea grapes” – The tropical green seaweeds *Caulerpa lentillifera* and *C. racemosa*. Journal of Applied Phycology. 2014;26(4):1833–1844. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0227-9>
2. Nguyễn Thị Mỹ Trang, Vũ Ngọc Bội. Research on preservation technology and equipment for industrial-scale processing of sea grapes (*Caulerpa lentillifera*): MSc diss. Nha Trang University, 2016. 450 p. [Nguyễn Thị Mỹ Trang, & Vũ Ngọc Bội. Nghiên cứu công nghệ và thiết bị bảo quản, chế biến rong nho (*Caulerpa lentillifera*) quy mô công nghiệp: Luận văn thạc sĩ. Trường Đại học Nha Trang, 2016. 450 tr. (Bộ Giáo dục và Đào tạo, Việt Nam). (In Thai)]
3. Wanida P, Satmalee P, Saah S, Paopun Y, Tamtin M. Brine-processed *Caulerpa lentillifera* macroalgal stability: Physicochemical, nutritional and microbiological properties. Life. 2023;13(11):2112. <https://doi.org/10.3390/life13112112>
4. Hoàng Thái Hà. Study on freeze-drying of sea grapes (*Caulerpa lentillifera* J. Agardh) combined with infrared radiation: MSc diss. Nha Trang University, 2018. 20 p. [Hoàng Thái Hà. Nghiên cứu sấy khô rong nho (*Caulerpa lentillifera* J. Agardh) bằng phương pháp sấy lạnh kết hợp bức xạ hồng ngoại: Luận văn thạc sĩ, Đại học Nha Trang, 2018. 20 tr. (In Thai)].
5. Lê Thị Tường. Preliminary processing and preservation of sea grapes (*Caulerpa lentillifera* J. Agardh 1837) after harvest: PhD dissertation, Nha Trang University, 2019. [Lê Thị Tường. Nghiên cứu sơ chế và bảo quản rong nho (*Caulerpa lentillifera* J. Agardh 1837) sau thu hoạch: Luận văn đại học, Đại học Nha Trang, 2019. (In Thai)]
6. Guo H, Yao J, Sun Z, Duan D. Effects of salinity and nutrients on the growth and chlorophyll fluorescence of *Caulerpa lentillifera*. Chinese Journal of Oceanology and Limnology. 2014;33(2):410–418. <https://doi.org/10.1007/s00343-015-4105-y>
7. Chapman VJ, Chapman DJ. Seaweeds and their Uses (3rd ed.). London: Chapman & Hall; 1980. 334 p. <http://dx.doi.org/10.1007/978-94-009-5806-7>
8. Goncalves EM, Pinheiro J, Abreu M, Brandão TRS, Silva CLM. Carrot (*Daucus carota* L.) peroxidase inactivation, phenolic content and physical changes kinetics due to blanching. Journal of Food Engineering. 2010;97(4):574–581. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.12.005>
9. Satmalee P, Pantoa T, Saah S, Paopun Y, Tamtin M, et al. Effects of pretreatment and drying methods on physical properties and bioactivity of sea lettuce (*Ulva rigida*). Food Science and Technology. 2023;43:e113622. <https://doi.org/10.1590/fst.113622>
10. Stuthmann LE, Du HT, da Costa BB, Kunzmann A, Springer K. Sea grape (*Caulerpa lentillifera*) aquaculture in van phong bay, Viet Nam: Evaluation of the post-harvest quality. Journal of Applied Phycology 2023;36(2):567–578. <https://doi.org/10.1007/s10811-023-03030-y>
11. Haisman DR, Clarke MW. The interfacial factor in the heat-induced conversion of chlorophyll to pheophytin in green leaves. Journal of the Science of Food and Agriculture. 1975;26(8):1111–1126. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740260809>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2591>
<https://elibrary.ru/MARVUU>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Потенциал совместного применения цеолита и ростостимулирующих бактерий для улучшения роста пшеницы



Н. Н. Богачёва^{ID}, Ю. Е. Афонина^{ID}, Ю. Р. Серазетдинова^{ID},
Д. Е. Колпакова*^{ID}, А. Найк^{ID}, Е. Р. Фасхутдинова^{ID},
Н. А. Любимова, Л. К. Асякина^{ID}

Кемеровский государственный университет^{ROR}, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 31.05.2025

Принята после рецензирования: 19.06.2025

Принята к публикации: 01.07.2025

*Д. Е. Колпакова: kolpakova1205@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-8508-3372>

Н. Н. Богачёва: <http://orcid.org/0000-0002-4238-5370>

Ю. Е. Афонина: <http://orcid.org/0009-0001-2669-7112>

Ю. Р. Серазетдинова: <https://orcid.org/0000-0002-3044-3529>

А. Найк: <http://orcid.org/0009-0009-9286-4976>

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

Л. К. Асякина: <https://orcid.org/0000-0003-4988-8197>

© Н. Н. Богачёва, Ю. Е. Афонина, Ю. Р. Серазетдинова, Д. Е. Колпакова, А. Найк,
Е. Р. Фасхутдинова, Н. А. Любимова, Л. К. Асякина, 2025



Аннотация.

Пшеница (*Triticum aestivum* L.) – основная зерновая культура, обеспечивающая глобальную продовольственную безопасность. Высокие дозы минеральных удобрений и пестицидов приводят к деградации почв и загрязнению окружающей среды. Альтернативой повышения урожайности являются микроорганизмы и природные сорбенты, в частности цеолит, улучшающий структуру почвы, удержание влаги и питательных веществ. Ростостимулирующие бактерии повышают доступность элементов питания для растений и вызывают их рост. Цель исследования – оценка влияния совместного применения цеолита и ростостимулирующих бактерий на рост пшеницы в лабораторных условиях.

Объекты исследования – сорта яровой мягкой пшеницы Сибирский Альянс, Памяти Афродиты, Надежда Кузбасса; ростостимулирующие бактерии (*Azotobacter chroococcum* B-4148, *Azotobacter vinelandii* B-932, *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-548) и консорциум на их основе (соотношение 1:3:1). Оценивали солубилизирующую активность штаммов, влияние цеолита (1 т/га) и бактериальных препаратов на показатели роста пшеницы.

Все бактерии солубилизировали цеолит (2,5–17,7 мм). Максимальную активность показал штамм *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-548 (17,7 мм). Совместное применение цеолита и консорциума положительно влияло на рост и развитие всех сортов пшеницы. Лучшие результаты достигнуты при обработке консорциумом с внесением в почву 1 т/га цеолита. Для сорта Сибирский Альянс всхожесть составила 86 %, длина побега – 183 мм, сухая масса – 42,4 %, содержание хлорофилла – 24,47 %, каротиноидов – 16,21 %, азота – 51,83 %. Для сорта Памяти Афродиты всхожесть составила – 80 %, длина побега – 157 мм, сухая масса – 31,3 %, содержание хлорофилла – 32,07 %, содержание каротиноидов – 19,40 %, азота – 59,35 %. Для сорта Надежда Кузбасса всхожесть – 98 %, длина побега – 185 мм, сухая масса – 41,2 %, содержание хлорофилла – 39,74 %, содержание каротиноидов – 28,47 %, азота – 55,26 %.

Полученные результаты подтверждают перспективность использования цеолита и бактерий для улучшения роста пшеницы, что согласуется с данными других исследований о положительном влиянии этих факторов на продуктивность сельскохозяйственных культур. Полученные результаты позволяют рекомендовать использование данного подхода для повышения продуктивности пшеницы, однако необходимы дальнейшие полевые испытания для подтверждения эффективности в производственных условиях.

Ключевые слова. Биоудобрение, зерновая культура, *Triticum aestivum* L., *Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca*, цеолит

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

Для цитирования: Богачёва Н. Н., Афонина Ю. Е., Серазетдинова Ю. Р., Колпакова Д. Е., Найк А. и др. Потенциал совместного применения цеолита и ростостимулирующих бактерий для улучшения роста пшеницы. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 509–520. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2591>

Combined Use of Zeolite and Growth-Stimulating Bacteria to Improve Wheat Growth



Natalia N. Bogacheva^{ID}, Yulia E. Afonina^{ID}, Yuliya R. Serazetdinova^{ID},
Daria E. Kolpakova*^{ID}, Adarsh Naik^{ID}, Elizaveta R. Faskhutdinova^{ID},
Nadezhda A. Lyubimova, Lyudmila K. Asyakina^{ID}

Kemerovo State University^{ROR}, Kemerovo, Russia

Received: 31.05.2025
Revised: 19.06.2025
Accepted: 01.07.2025

*Daria E. Kolpakova: kolpakova1205@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-8508-3372>
Natalia N. Bogacheva: <http://orcid.org/0000-0002-4238-5370>
Yulia E. Afonina: <http://orcid.org/0009-0001-2669-7112>
Yuliya R. Serazetdinova: <https://orcid.org/0000-0002-3044-3529>
Adarsh Naik: <http://orcid.org/0009-0009-9286-4976>
Elizaveta R. Faskhutdinova: <https://orcid.org/0000-0001-9711-2145>
Lyudmila K. Asyakina: <https://orcid.org/0000-0003-4988-8197>

© N.N. Bogacheva, Yu.E. Afonina, Yu.R. Serazetdinova, D.E. Kolpakova, A. Naik,
E.R. Faskhutdinova, N.A. Lyubimova, L.K. Asyakina, 2025



Abstract.

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is the major grain crop that ensures global food security. Intensive farming often involves overuse of mineral fertilizers and pesticides, which leads to soil degradation and environmental pollution. Microorganisms and natural sorbents, e.g., zeolite, offer an alternative solution to the crop yield problem. Zeolite improves the soil structure while helping to retain moisture and nutrients. Growth-stimulating bacteria increase the availability of nutrients for plants and stimulate their growth. This research featured the effect of the combined use of zeolite and bacteria on different wheat varieties and growth indicators in laboratory conditions.

The experiment involved spring wheat varieties of Sibirskiy Alyans, Pamyati Afrodity, and Nadezhda Kuzbassa. The list of growth-stimulating bacteria included *Azotobacter chroococcum* B-4148, *Azotobacter vinelandii* B-932, and *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-548, as well as their consortium (1:3:1). The indicators to be checked included the solubilizing activity of the strains and the effect of zeolite (1 t/ha) and bacterial preparations on wheat growth.

All bacteria solubilized zeolite (2.5–17.7 mm). The highest activity belonged to *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-548 (17.7 mm). The combined application of zeolite (1 t/ha) and the bacterial consortium had a positive effect on the growth and development of all wheat varieties. The Sibirskiy Alyans variety showed a germination rate of 86%, a shoot length of 183 mm, a dry weight of 42.4%, a chlorophyll content of 24.47%, a carotenoid content of 16.21%, and a nitrogen concentration of 51.83%. The Pamyati Afrodity variety demonstrated 80% germination rate, 157 mm shoot length, 31.3% dry weight, 32.07% chlorophylls, 19.40% carotenoids, and 59.35% nitrogen. The Nadezhda Kuzbassa variety had 98% germination rate, 185 mm shoot length, 41.2% dry weight, 39.74% chlorophylls, 28.47% carotenoids, and 55.26% nitrogen.

The results confirmed the industrial efficiency of zeolite and bacteria in wheat farming, as did other reports on their positive effect on crop yield. However, further field trials are needed to confirm the results in conditions close to reality.

Keywords. Biofertilizer, grain crop, *Triticum aestivum* L., *Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca*, zeolite

Funding. The research was part of State Assignment FZSR-2024-0009: Growth-stimulating bacteria that increase the agronomic biofortification of wheat.

For citation: Bogacheva NN, Afonina YuE, Serazetdinova YuR, Kolpakova DE, Naik A, et al. Combined Use of Zeolite and Growth-Stimulating Bacteria to Improve Wheat Growth. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):509–520. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2591>

Введение

Глобальный рост населения обостряет проблему продовольственной безопасности, являющейся ключевым фактором социально-экономического развития любой страны. Мировое потребление продоволь-

ствия определяется демографическими показателями, в то время как объем сельскохозяйственного производства формирует общее предложение продовольствия. Как основополагающий компонент агропромышленного комплекса зерновые культуры представляют

собой ключевой индикатор продовольственной обеспеченности на международном, континентальном и региональном уровнях. Достижение устойчивой продовольственной безопасности предполагает комплексный подход, включающий развитие устойчивых агротехнологий. В частности, необходимо разрабатывать и внедрять инновационные подходы к повышению урожайности и устойчивости основных сельскохозяйственных культур, таких как пшеница [1, 2].

Наиболее актуальным направлением является разработка агробиотехнологий, которые предназначены для возделывания пшеницы (*Triticum aestivum* L.), важнейшей зерновой культуры, занимающей свыше 220 млн га посевных площадей в мире. Мировой валовой сбор пшеницы достигает 808 млн т ежегодно. Рассматриваемая культура позволяет обеспечивать около 20 % суточной потребности человека в калориях и белке [3].

Производство пшеницы сталкивается с существенными вызовами, обусловленными воздействием абиотических и биотических стрессоров. Абиотические факторы (экстремальные температурные режимы, дефицит влаги и засоление почв) оказывают значительное негативное влияние на рост и продуктивность культуры. Биотический стресс включает негативное влияние фитопатогенов и вредителей. Минимизация воздействия данных стрессовых факторов является критически важной для обеспечения продовольственной безопасности и поддержания объемов производства пшеницы на глобальном уровне. Это обуславливает необходимость проведения исследований и разработки агротехнических мероприятий по смягчению негативного влияния стрессоров [4].

В современной сельскохозяйственной практике для повышения урожайности зерновых, особенно пшеницы, широко применяются химические пестициды и стимуляторы роста, которые оказывают неблагоприятное воздействие на окружающую среду [5]. Некоторые препараты, полученные химическим способом, относятся к группе устойчивых и не разрушаются за время одного вегетационного сезона. Из-за неправильного использования эти химикаты попадают в окружающую среду в качестве загрязняющих веществ, что приводит к изменению почвы (pH, засоление, дисбаланс, минерально-органический состав и т. д.) [6, 7]. Пестициды оказывают негативное влияние на видовое разнообразие почвенной микробиоты, что приводит к снижению плодородия почвы, способности минерализации фосфора, железа и т. д. В статье Senabio *et al.* [8] изучено влияние инсектицида (карбофуран) и гербицида (пиклорам) на почвенную микробиоту. Использование данных пестицидов изменило функциональный профиль сообществ: снизилась численность, разнообразие и видовой состав микроорганизмов, что стало причиной значительного ухудшения почвы. Alengebawy *et al.* [9] пришли к выводу, что чрезмерное использование неорганических удобрений (фосфатные, нитратные и др.)

и пестицидов (инсектициды, гербициды и фунгициды) способствует накоплению тяжелых металлов (кадмий, свинец, медь и цинк) в экосистеме и подавляет жизнедеятельность полезной микробиоты почвы.

Использование синтетических пестицидов и удобрений создает антропогенное загрязнение окружающей среды и вызывает существенные негативные изменения в экологической обстановке. Для решения данной проблемы осуществляют поиск альтернативных безопасных препаратов и удобрений. Например, использование природных минералов – цеолитов [10, 11].

Цеолиты – природные алюмосиликаты, их основные компоненты – диоксид кремния (50–70 %) и оксид алюминия (11–13 %), а также щелочные и щелочно-земельные катионы (Ca^{2+} , Na^+ , K^+ и др.) [12]. Кремний стимулирует защитные механизмы растений к абиотическим (засуха, окисление почв и др.) и биотическим (сорняки, насекомые и т. д.) стрессам. Применение кремниевых удобрений благоприятно влияет на развитие и рост сельскохозяйственных культур [13, 14]. Таким образом природные цеолиты способствуют повышению стрессоустойчивости растений.

Природные цеолиты благодаря своей пористой и кристаллической структуре обладают ионнообменными, катализирующими, влагоудерживающими и адсорбционными свойствами. В связи с этим цеолиты удерживают катионы питательных веществ, таких как калий, кальций, магний и аммоний, предотвращая их вымывание из почвы. Затем они постепенно высвобождают питательные вещества, обеспечивая растения ими по мере необходимости. Это повышает эффективность использования удобрений и снижает затраты на их приобретение. Пористая структура цеолитов позволяет им удерживать значительное количество воды, действуя как резервуар влаги в почве. Это особенно важно в засушливых регионах, где доступность воды является ограничивающим фактором для роста растений [15].

Эти свойства делают цеолиты перспективными для применения в сельском хозяйстве. В исследовании Zheng *et al.* [16] изучено влияние цеолита и фосфатных минеральных удобрений на рост и развитие риса. В результате выявлено, что цеолит способствует усвоению фосфора растениями. Так, содержание фосфора увеличилось на 20,3 и 32,7 % в листьях и стебле соответственно в сравнении с контрольным опытом (без внесения цеолита), потребление рисом воды также увеличилось – на 15,2 % в сравнении с контролем. Куликова и др. [17] изучили влияние цеолита и различных его комбинаций на рост и развитие кукурузы. Цеолит дозой 250 кг/га повысил урожайность зерна на 0,18 т, при дозе 500 кг/га – на 0,78 т в сравнении с контролем без минерала. Использование цеолита, внутри которого индуцированы аминокислоты и карбид, повысило урожайности кукурузы до 2 т/га.

Chamani *et al.* [18] изучили влияние цеолита и биоудобрения на урожайность и усвоение питательных

веществ в зерне двух сортов кукурузы (св. 6010 и ns 71). Максимальная урожайность семян (4,48 т/га) получена при внесении цеолита с *Bacillus* sp. и арбускулярными микоризными грибами по сравнению с раздельным их использованием (в данных вариантах урожайность снизилась на 31,2 %). В исследовании Degtyareva and Kirillova [19] также проводилась оценка влияния биоудобрений с цеолитом на урожайность и микробиоценоз гречихи. Урожайность гречихи в вариантах с цеолитом (размер частиц 0,04 мм) и минеральными удобрениями была в 1,3 и 1,8 раза выше, чем в контроле. В течение вегетационного периода в вариантах с консорциумом микроорганизмов отмечалась высокая дыхательная активность почвенной микробиоты.

Цеолит способствует повышению водоудерживающей способности, что улучшает физические свойства почвы. Это приводит к увеличению почвенной микробиоты и биологической активности почвы. Цеолит помогает увеличить урожайность на 2–3 года [20].

Исламгулов с соавторами установили, что внесение природного цеолита способствует улучшению агрохимических свойств чернозема и значительному повышению продуктивности озимой ржи и вико-овсяной смеси. Так, при внесении 15 т/га цеолита корневая растительная масса озимой ржи увеличилась на 70,6 % в сравнении с контролем, при 20 т/га – на 100,0 %; при 25 т/га – на 207,4 % [21]. Дегтярева и др. провели эксперимент с семенами рапса (сорт Набат) и комплексным удобрением, состоящим из природного цеолита и микробиологического консорциума. В состав консорциума вошли следующие микроорганизмы: *Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas brassica-cearum*, *Sphingobacterium multivorum*, *Achromobacter xylosoxidans*. После обработанные семена посеяли в сосуды Вагнера. Комплексное удобрение на основе цеолита благоприятно повлияло на семена рапса, увеличив их массу на 6,63 г/сосуд в сравнении с контрольным опытом. Это на 41,7 % больше контроля (обработка водой). Также результаты эксперимента говорят о том, что данное удобрение может подавлять рост фитопатогенных грибов *Fusarium*, которые появились на начальной фазе онтогенеза и не обнаружены в фазе спелости ярового рапса [22].

Применение цеолита в качестве удобрения для сельскохозяйственных почв увеличивает поглощение азота,

калия и фосфора, что в дальнейшем при выращивании кукурузы улучшает ее показатели роста, т. к. потребление данных микро- и макроэлементов происходит на постоянной основе [23].

При внесении цеолита в почву повышается развитие ризосферных микроорганизмов. Более эффективно действует цеолит, обогащенный аминокислотами, способствует усилению работы местной микробиоты, преобразующей азот из труднодоступных (органических) форм в растворимые, доступные для питания растений [24].

Таким образом, использование цеолита в сельском хозяйстве положительно влияет на урожайность и плодородие почвы. Он используется в борьбе с загрязнением почвы тяжелыми металлами и химическими веществами, для удержания влаги, улучшения питания растений необходимыми веществами (например калий, натрий, фосфор), нормализации pH почвы. Совместное использование цеолита и микроорганизмов в качестве комплексного удобрения положительно влияет на рост и развитие растений. Цеолит, обладая пролонгирующим действием, высвобождает питательные вещества, которые необходимы для активной жизнедеятельности почвенной микробиоты, помогающей злаковым растениям получать полноценное почвенное питание.

Цель исследования – оценить влияние цеолита в сочетании с ростостимулирующими бактериями *A. chroococcum*, *Azotobacter vinelandii* и *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* на рост и развитие семян яровой мягкой пшеницы в лабораторных условиях.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования – семена яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сортов Сибирский Альянс (рис. 1а), Памяти Афродиты (рис. 1б) и Надежда Кузбасса (рис. 1с), предоставленные Кемеровским научно-исследовательским институтом сельского хозяйства – филиалом Сибирского федерального научного центра агробиотехнологии РАН (г. Кемерово).

В том числе использовали бактериальные штаммы (*Azotobacter chroococcum* B-4148, *Azotobacter vinelandii* B-932 и *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-548) и консорциум на их основе (соотношение микроорганизмов 1:3:1), изученные на предыдущем этапе работы [25].



Рисунок 1. Семена яровой мягкой пшеницы сортов: а – Сибирский Альянс, б – Памяти Афродиты, с – Надежда Кузбасса

Figure 1. Seeds of spring wheat varieties: a – Sibirskiy Alyans, b – Pamyati Afrodity, c – Nadezhda Kuzbassa

Для определения способности микроорганизмов к солюбилизации цеолита использовали методику, описанную в работе Bist *et al.* [26]. Суточные культуры исследуемых бактерий высевали уколом на среду следующего состава, г/л: глюкоза (ChemExpress, Россия) – 20,0; пептон (ЛенРеактив, Россия) – 1,0; дрожжевой экстракт (ЛенРеактив, Россия) – 1,0; аммония сульфат (ЛенРеактив, Россия) – 0,5; магния хлорид (ХимЭкспресс, Россия) – 0,1; железа (III) хлорид (ЛенРеактив, Россия) – 0,01; бактериологический агар (Himmag, Россия) – 20,0. И цеолит – содержание 0,25 %. Культивировали в термостате ТСО–1/80 СПУ (Смоленское СКТБ СПУ, Россия) при температуре 28 ± 2 °C в течение 7 суток. Вокруг бактерий, способных солюбилизировать цеолит, наблюдалась зона просветления (гало-зона). С целью количественного выражения результатов эксперимента измеряли диаметр колонии и гало-зоны и рассчитывали диаметр растворения цеолита по формуле 1:

$$D_{\text{сц}} = D_{\text{к+а}} + D_{\text{к}} \quad (1)$$

где $D_{\text{сц}}$ – диаметр зоны солюбилизации цеолита, мм; $D_{\text{к+а}}$ – диаметр колонии с гало-зоной, мм; $D_{\text{к}}$ – диаметр колонии, мм.

Лабораторную апробацию бактериальных штаммов и консорциума проводили в соответствии с методикой, описанной в раннее опубликованной работе Faskhudinova *et al.* [27]. Варианты обработки семян пшеницы представлены в таблице 1.

Определение всхожести (X, %) проводили на 7 суток в соответствии с ГОСТ 12038-84 «Семена сельскохозяйственных культур. Метод определения всхожести» по формуле 2:

$$X = \frac{C_{\text{вс}}}{C_{\text{пос}}} \times 100 \quad (2)$$

где $C_{\text{вс}}$ – количество всходов, шт.; $C_{\text{пос}}$ – количество посаженных семян, шт.

Для изучения влияния каждого варианта обработки измеряли параметры роста (длину) и сухой вес назем-

ной части пшеницы. Длину побега пшеницы измеряли на миллиметровой бумаге с точностью до 0,5 мм.

Определение хлорофилла и каротиноидов в наземной части растения проводили с использованием спектрофотометрического анализа согласно методике, описанной в исследовании Серазетдиновой с соавторами [28]. Для этого измельченную наземную часть экстрагировали 50 мл 70 % этанолом на водяной бане и фильтровали. К 4 мл полученного экстракта добавляли 21 мл 96 % этилового спирта. Затем поглощение пигмента измеряли спектрофотометрически при 667 и 480 нм (общий хлорофилл и каротиноиды соответственно).

Содержание азота и белка в наземной части растений определяли на анализаторе азота и белка Rapid N Cube (Elementar, Германия) согласно технической документации к оборудованию.

Исследования проводились в трехкратной повторности. Полученные значения данных были выражены как среднее значение трех измерений со стандартным отклонением. Для статистического анализа использовались Microsoft Office Excel 2007 и одновыборочный парный *t*-критерий Стьюдента для каждой пары [29]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Все исследуемые штаммы солюбилизировали фосфаты и продуцировали АСС-деаминазу, гиббереллиновую кислоту, сидерофоры. Также обладали азотфиксирующей способностью и высокой антагонистической активностью в отношении фитопатогенов [25].

Результаты исследования способности штаммов солюбилизировать цеолит представлены на рисунке 2 и в таблице 2.

Все бактериальные культуры продемонстрировали потенциал к солюбилизации цеолита в диапазоне от 2,5 до 17,7 мм. Штамм *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-548 обладал наилучшей способностью к солюбилизации цеолита (17,7 мм). Наименьшую способность к переводу цеолита в биодоступную форму проявил штамм *Azotobacter chroococcum* B-4148 (2,5 мм).

Таблица 1. Варианты обработки семян яровой мягкой пшеницы

Table 1. Variants of experimental processing

Опыт	Описание
Вариант 1.1	Обработка дистиллированной водой
Вариант 1.2	Внесение в почву 15 т/га цеолита
Вариант 2.1	Обработка штаммом <i>Azotobacter chroococcum</i> B-4148
Вариант 2.2	Обработка штаммом <i>Azotobacter vinelandii</i> B-932
Вариант 2.3	Обработка штаммом <i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>aurantiaca</i> B-548
Вариант 2.4	Обработка консорциумом (соотношение микроорганизмов 1:3:1)
Вариант 3.1	Обработка штаммом <i>Azotobacter chroococcum</i> B-4148 с внесением в почву 1 т/га цеолита
Вариант 3.2	Обработка штаммом <i>Azotobacter vinelandii</i> B-932 с внесением в почву 1 т/га цеолита
Вариант 3.3	Обработка штаммом <i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>aurantiaca</i> B-548 с внесением в почву 1 т/га цеолита
Вариант 3.4	Обработка консорциумом с внесением в почву 1 т/га цеолита

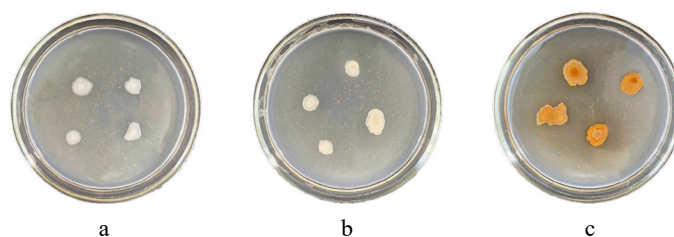


Рисунок 2. Способность бактериальных культур солюбилизовать цеолит: а – *Azotobacter chroococcum* B-4148; б – *Azotobacter vinelandii* B-932; в – *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-548

Figure 2. Ability of bacterial cultures to solubilize zeolite: a – *Azotobacter chroococcum* B-4148; b – *Azotobacter vinelandii* B-932; c – *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-548

Таблица 2. Результаты способности штаммов солюбилизовать цеолит

Table 2. Zeolite-solubilizing results for each strain

Исследуемый штамм	Солюбилизация цеолита (гало-зона), мм
<i>Azotobacter chroococcum</i> B-4148	2,5 ± 0,5
<i>Azotobacter vinelandii</i> B-932	4,0 ± 0,4
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>aurantiaca</i> B-548	17,7 ± 3,8

Полученные данные согласуются с результатами других исследователей. Так, Hindersah *et al.* [30] провели лабораторный эксперимент для оценки популяции *Azotobacter* и других микроорганизмов в твердом биодобрении с несколькими концентрациями цеолита. Более высокая популяция видов бактерий была в биодобрении, содержащем по 5 % цеолита и жидкого инокулянта. В исследовании Salamatpour *et al.* внесение в почву *Azospirillum*, *Azotobacter* и нано-кремния улучшило агрономические характеристики, урожайность и усвоение питательных веществ в зерне риса [31].

В таблице 3 представлены результаты оценки способности штаммов и консорциума стимулировать рост и развитие яровой мягкой пшеницы сорта Сибирский Альянс в лабораторных условиях.

Применение совместной обработки микроорганизмами, консорциумом и внесением цеолита в почву продемонстрировало положительное влияние на яровую мягкую пшеницу сорта Сибирский Альянс в сравнении с контрольными образцами.

Всхожесть варьировалась в диапазоне 76–94 %. Наилучшую всхожесть показали варианты 2.2 (обработка штаммом *Azotobacter vinelandii* B-932 – 94 %) и 3.4 (обработка консорциумом с внесением в почву 1 т/га цеолита – 86 %) в сравнении с водой (78 %) и цеолитом (76 %). В вариантах с цеолитом показатель всхожести был на 5 % ниже, чем в образцах, обработанных микроорганизмами и консорциумом.

Средняя длина и сухая масса ростка варьировались от 178 до 200 мм и от 39,0 до 58,6 мг соответственно. Вариант обработки штаммом *A. chroococcum* B-4148 с внесением в почву 1 т/га цеолита показал наилучшие результаты по данным показателям (200 мм и 58,6 мг соответственно).

Результаты исследования способности штаммов и консорциума стимулировать рост и развитие яровой мягкой пшеницы сорта Памяти Афродиты в лабораторных условиях представлены в таблице 4.

Наибольшей эффективностью обладал штамм *A. vinelandii* B-932. Варианты 2.2 (обработка *A. vinelandii* B-932) и 3.2 (штамм *A. vinelandii* B-932 и внесение в почву цеолита), которыми обработана яровая мягкая пшеница сорта Памяти Афродиты, имели среднюю длину ростка 194 и 198 мм соответственно, также обработка почвы цеолитом (вариант 1.2.) показала отличный результат, где средняя длина ростка составила 210 мм.

Наибольшая всхожесть наблюдалась в варианте 2.3 (обработка семян штаммом *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-548) – 84 %, наименьшая – в вариантах 2.1 и 3.1.

Вариант обработки штаммом *A. vinelandii* B-932 с внесением в почву 1 т/га цеолита показал наилучшие результаты по средней длине и сухой массе ростка (198 мм и 62,1 мг соответственно).

Результаты исследования способности штаммов и консорциума стимулировать рост и развитие яровой мягкой пшеницы сорта Надежда Кузбасса в лабораторных условиях представлены в таблице 5.

При обработке пшеницы сорта Надежда Кузбасса наибольшей эффективностью обладало совместное использование консорциума с внесением цеолита в почву (вариант 3.4). Данный вариант имел всхожесть 98 %, среднюю длину и сухую массу ростка – 185 мм и 41,2 мм.

Результаты анализа содержания азота, общего хлорофилла и каротиноидов представлены в таблице 6. Для яровой мягкой пшеницы сорта Сибирский Альянс

Таблица 3. Лабораторная апробация консорциума и штаммов, входящих в его состав, на яровую мягкую пшеницу сорта Сибирский Альянс

Table 3. Effect of bacterial consortium and separate strains on Sibirskiy Alyans spring wheat variety

Опыт	Всхожесть, %	Средняя длина ростка, мм	Средняя сухая масса одного ростка, мг
Вариант 1.1	78 ± 1	181 ± 1	39,0 ± 1,4
Вариант 1.2	76 ± 2 $T_{st1} = 1,6; p \leq 0,05$	187 ± 5 $T_{st1} = 2,0; p \leq 0,05$	40,5 ± 1,7 $T_{st1} = 1,2; p \leq 0,05$
Вариант 2.1	80 ± 2 $T_{st1} = 1,6; p \leq 0,05$	178 ± 2 $T_{st1} = 2,3; p \leq 0,05$	30,2 ± 1,2 $T_{st1} = 8,3; p \leq 0,05$
Вариант 2.2	94 ± 3 $T_{st1} = 8,8; p \leq 0,05$	178 ± 3 $T_{st1} = 0,1; p \leq 0,05$	27,5 ± 1,0 $T_{st1} = 11,6; p \leq 0,05$
Вариант 2.3	86 ± 1 $T_{st1} = 12,6; p \leq 0,05$	183 ± 5 $T_{st1} = 0,7; p \leq 0,05$	41,2 ± 1,0 $T_{st1} = 2,2; p \leq 0,05$
Вариант 2.4	81 ± 1 $T_{st1} = 3,7; p \leq 0,05$	194 ± 5 $T_{st1} = 4,4; p \leq 0,05$	54,4 ± 1,5 $T_{st1} = 13,0; p \leq 0,05$
Вариант 3.1	80 ± 2 $T_{st1} = 1,6; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 2,5; p \leq 0,05$	200 ± 4 $T_{st1} = 8,0; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 3,5; p \leq 0,05$	58,6 ± 1,8 $T_{st1} = 15,0; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 12,7; p \leq 0,05$
Вариант 3.2	76 ± 2 $T_{st1} = 1,6; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 0; p \leq 0,05$	199 ± 6 $T_{st1} = 5,1; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 2,7; p \leq 0,05$	58,2 ± 2,2 $T_{st1} = 12,8; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 11,1; p \leq 0,05$
Вариант 3.3	78 ± 1 $T_{st1} = 0; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 1,6; p \leq 0,05$	183 ± 4 $T_{st1} = 0,8; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 1,1; p \leq 0,05$	40,0 ± 1,7 $T_{st1} = 1,1; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 0,4; p \leq 0,05$
Вариант 3.4	86 ± 1 $T_{st1} = 12,6; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 8,6; p \leq 0,05$	183 ± 4 $T_{st1} = 0,8; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 1,1; p \leq 0,05$	42,4 ± 1,2 $T_{st1} = 3,2; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 1,6; p \leq 0,05$

Примечание: T_{st1} – сравнение с дистиллированной водой (вариант 1.1); T_{st2} – сравнение с внесением в почву 15 т/га цеолита (вариант 1.2).

Note: T_{st1} – vs. distilled water (Variant 1.1); T_{st2} – vs. 15 t/ha zeolite in soil (Variant 1.2).

Таблица 4. Лабораторная апробация консорциума и штаммов, входящих в его состав, на яровую мягкую пшеницу сорта Памяти Афродиты

Table 4. Effect of bacterial consortium and separate strains on Pamyati Afrodity spring wheat variety

Опыт	Всхожесть, %	Средняя длина ростка, мм	Средняя сухая масса одного ростка, мг
Вариант 1.1	74 ± 2	186 ± 1	54,2 ± 1,6
Вариант 1.2	74 ± 3 $T_{st1} = 0; p \leq 0,05$	210 ± 4 $T_{st1} = 10,1; p \leq 0,05$	64,2 ± 1,8 $T_{st1} = 7,2; p \leq 0,05$
Вариант 2.1	66 ± 2 $T_{st1} = 4,9; p \leq 0,05$	176 ± 3 $T_{st1} = 5,5; p \leq 0,05$	41,2 ± 1,3 $T_{st1} = 10,9; p \leq 0,05$
Вариант 2.2	76 ± 3 $T_{st1} = 1,0; p \leq 0,05$	194 ± 2 $T_{st1} = 6,2; p \leq 0,05$	61,8 ± 1,3 $T_{st1} = 6,4; p \leq 0,05$
Вариант 2.3	84 ± 4 $T_{st1} = 3,9; p \leq 0,05$	170 ± 1 $T_{st1} = 19,8; p \leq 0,05$	40,5 ± 1,1 $T_{st1} = 12,2; p \leq 0,05$
Вариант 2.4	80 ± 3 $T_{st1} = 2,9; p \leq 0,05$	189 ± 4 $T_{st1} = 1,3; p \leq 0,05$	60,3 ± 1,0 $T_{st1} = 5,6; p \leq 0,05$
Вариант 3.1	66 ± 3 $T_{st1} = 3,8; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 3,3; p \leq 0,05$	179 ± 2 $T_{st1} = 5,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 12,0; p \leq 0,05$	42,7 ± 1,3 $T_{st1} = 9,7; p \leq 0,0$ $T_{st2} = 16,8; p \leq 0,055$
Вариант 3.2	72 ± 2 $T_{st1} = 1,2; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 1,0; p \leq 0,05$	198 ± 2 $T_{st1} = 9,3; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 4,7; p \leq 0,05$	62,1 ± 1,2 $T_{st1} = 7,0; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 1,7; p \leq 0,05$
Вариант 3.3	78 ± 1 $T_{st1} = 3,1; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 2,2; p \leq 0,05$	181 ± 3 $T_{st1} = 2,7; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 10,5; p \leq 0,05$	50,7 ± 1,5 $T_{st1} = 2,8; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 10,0; p \leq 0,05$
Вариант 3.4	80 ± 3 $T_{st1} = 1,5; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 1,4; p \leq 0,05$	157 ± 1 $T_{st1} = 35,8; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 22,3; p \leq 0,05$	31,3 ± 1,1 $T_{st1} = 20,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 27,2; p \leq 0,05$

Примечание: T_{st1} – сравнение с дистиллированной водой (вариант 1.1); T_{st2} – сравнение с внесением в почву 15 т/га цеолита (вариант 1.2).

Note: T_{st1} – vs. distilled water (Variant 1.1); T_{st2} – vs. 15 t/ha zeolite in soil (Variant 1.2).

Таблица 5. Лабораторная апробация консорциума и штаммов, входящих в его состав, на яровую мягкую пшеницу сорта Надежда Кузбасса

Table 5. Effect of bacterial consortium and separate strains on Nadezhda Kuzbassa spring wheat variety

Опыт	Всхожесть, %	Средняя длина ростка, мм	Средняя сухая масса одного ростка, мг
Вариант 1.1	88 ± 2	165 ± 1	34,3 ± 1,1
Вариант 1.2	86 ± 4 $T_{st1} = 0,8; p \leq 0,05$	202 ± 2 $T_{st1} = 28,7; p \leq 0,05$	51,1 ± 1,3 $T_{st1} = 17,1; p \leq 0,05$
Вариант 2.1	80 ± 1 $T_{st1} = 6,2; p \leq 0,05$	174 ± 2 $T_{st1} = 7,0; p \leq 0,05$	39,8 ± 1,7 $T_{st1} = 4,7; p \leq 0,05$
Вариант 2.2	82 ± 2 $T_{st1} = 3,7; p \leq 0,05$	186 ± 1 $T_{st1} = 25,9; p \leq 0,05$	42,2 ± 1,0 $T_{st1} = 9,3; p \leq 0,05$
Вариант 2.3	86 ± 3 $T_{st1} = 1,0; p \leq 0,05$	185 ± 4 $T_{st1} = 8,4; p \leq 0,05$	40,2 ± 1,4 $T_{st1} = 7,5; p \leq 0,05$
Вариант 2.4	82 ± 1 $T_{st1} = 4,7; p \leq 0,05$	186 ± 5 $T_{st1} = 7,1; p \leq 0,05$	42,4 ± 1,2 $T_{st1} = 8,7; p \leq 0,05$
Вариант 3.1	88 ± 4 $T_{st1} = 0; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 0,6; p \leq 0,05$	184 ± 3 $T_{st1} = 10,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 8,7; p \leq 0,05$	38,4 ± 1,2 $T_{st1} = 4,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 12,5; p \leq 0,05$
Вариант 3.2	88 ± 3 $T_{st1} = 0; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 0,7; p \leq 0,05$	184 ± 3 $T_{st1} = 10,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 8,7; p \leq 0,05$	38,9 ± 1,5 $T_{st1} = 4,3; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 10,7; p \leq 0,05$
Вариант 3.3	96 ± 2 $T_{st1} = 4,9; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 3,9; p \leq 0,05$	168 ± 2 $T_{st1} = 2,3; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 20,9; p \leq 0,05$	39,0 ± 1,3 $T_{st1} = 4,8; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 11,4; p \leq 0,05$
Вариант 3.4	98 ± 1 $T_{st1} = 7,8; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 5,0; p \leq 0,05$	185 ± 1 $T_{st1} = 24,7; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 13,2; p \leq 0,05$	41,2 ± 1,6 $T_{st1} = 6,2; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 8,3; p \leq 0,05$

Примечание: T_{st1} – сравнение с дистиллированной водой (вариант 1.1); T_{st2} – сравнение с внесением в почву 15 т/га цеолита (вариант 1.2).Note: T_{st1} – vs. distilled water (Variant 1.1); T_{st2} – vs. 15 t/ha zeolite in soil (Variant 1.2).

Таблица 6. Результаты исследования влияния штаммов и консорциума на показатели роста зерновых культур со стандартной планкой погрешности

Table 6. Effect of strains and their consortium on growth indicators across wheat varieties, standard error bar

Опыт	Хлорофилл, %	Каротиноиды, %	Содержание азота, мг/г
Яровая мягкая пшеница сорта Сибирский Альянс			
Вариант 1.1	11,85 ± 0,47	10,60 ± 0,42	46,03 ± 1,84
Вариант 1.2	12,78 ± 0,38 $T_{st1} = 2,7; p \leq 0,05$	8,81 ± 0,26 $T_{st1} = 6,4; p \leq 0,05$	45,97 ± 1,38 $T_{st1} = 0,1; p \leq 0,05$
Вариант 2.1	15,90 ± 0,64 $T_{st1} = 9,0; p \leq 0,05$	11,02 ± 0,44 $T_{st1} = 1,2; p \leq 0,05$	46,99 ± 1,88 $T_{st1} = 0,6; p \leq 0,05$
Вариант 2.2	13,37 ± 0,40 $T_{st1} = 4,3; p \leq 0,05$	11,89 ± 0,36 $T_{st1} = 4,2; p \leq 0,05$	47,88 ± 1,44 $T_{st1} = 1,4; p \leq 0,05$
Вариант 2.3	13,68 ± 0,55 $T_{st1} = 4,5; p \leq 0,05$	11,12 ± 0,44 $T_{st1} = 1,5; p \leq 0,05$	46,84 ± 1,87 $T_{st1} = 0,5; p \leq 0,05$
Вариант 2.4	19,20 ± 0,58 $T_{st1} = 17,1; p \leq 0,05$	12,46 ± 0,37 $T_{st1} = 5,8; p \leq 0,05$	48,29 ± 1,45 $T_{st1} = 0,5; p \leq 0,05$
Вариант 3.1	19,27 ± 0,77 $T_{st1} = 12,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 13,12; p \leq 0,05$	12,77 ± 0,51 $T_{st1} = 5,7; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 12,0; p \leq 0,05$	48,43 ± 1,94 $T_{st1} = 1,6; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 1,8; p \leq 0,05$
Вариант 3.2	22,89 ± 0,69 $T_{st1} = 23,0; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 22,5; p \leq 0,05$	15,01 ± 0,45 $T_{st1} = 12,6; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 20,7; p \leq 0,05$	49,32 ± 1,48 $T_{st1} = 2,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 2,9; p \leq 0,05$
Вариант 3.3	13,59 ± 0,54 $T_{st1} = 4,2; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 2,1; p \leq 0,05$	14,45 ± 0,58 $T_{st1} = 9,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 15,7; p \leq 0,05$	46,52 ± 1,86 $T_{st1} = 0,3; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 0,4; p \leq 0,05$
Вариант 3.4	24,47 ± 0,73 $T_{st1} = 25,2; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 24,9; p \leq 0,05$	16,21 ± 0,49 $T_{st1} = 15,2; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 23,1; p \leq 0,05$	51,83 ± 1,55 $T_{st1} = 4,2; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 4,9; p \leq 0,05$

Продолжение таблицы 6

Опыт	Хлорофилл, %	Каротиноиды, %	Содержание азота, мг/г
Яровая мягкая пшеница сорта Памяти Афродиты			
Вариант 1.1	15,05 ± 0,60	10,57 ± 0,42	44,00 ± 1,76
Вариант 1.2	13,45 ± 0,40 $T_{st1} = 3,9; p \leq 0,05$	9,25 ± 0,28 $T_{st1} = 4,7; p \leq 0,05$	46,00 ± 1,38 $T_{st1} = 1,6; p \leq 0,05$
Вариант 2.1	23,36 ± 0,93 $T_{st1} = 13,2; p \leq 0,05$	14,30 ± 0,57 $T_{st1} = 9,3; p \leq 0,05$	46,58 ± 1,86 $T_{st1} = 1,8; p \leq 0,05$
Вариант 2.2	16,66 ± 0,50 $T_{st1} = 3,6; p \leq 0,05$	12,46 ± 0,37 $T_{st1} = 5,9; p \leq 0,05$	46,53 ± 1,40 $T_{st1} = 2,4; p \leq 0,05$
Вариант 2.3	16,41 ± 0,66 $T_{st1} = 2,7; p \leq 0,05$	12,17 ± 0,49 $T_{st1} = 4,3; p \leq 0,05$	47,69 ± 1,91 $T_{st1} = 2,5; p \leq 0,05$
Вариант 2.4	17,09 ± 0,51 $T_{st1} = 9,8; p \leq 0,05$	12,75 ± 0,38 $T_{st1} = 6,8; p \leq 0,05$	48,13 ± 1,44 $T_{st1} = 3,2; p \leq 0,05$
Вариант 3.1	18,78 ± 0,75 $T_{st1} = 4,5; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 10,9; p \leq 0,05$	11,05 ± 0,44 $T_{st1} = 1,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 6,0; p \leq 0,05$	49,41 ± 1,98 $T_{st1} = 3,6; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 2,5; p \leq 0,05$
Вариант 3.2	31,81 ± 0,95 $T_{st1} = 26,2; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 31,1; p \leq 0,05$	19,13 ± 0,57 $T_{st1} = 21,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 27,4; p \leq 0,05$	59,04 ± 1,77 $T_{st1} = 10,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 10,1; p \leq 0,05$
Вариант 3.3	23,11 ± 0,92 $T_{st1} = 12,8; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 16,9; p \leq 0,05$	10,97 ± 0,44 $T_{st1} = 1,1; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 5,7; p \leq 0,05$	49,52 ± 1,98 $T_{st1} = 3,6; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 2,5; p \leq 0,05$
Вариант 3.4	32,07 ± 0,85 $T_{st1} = 28,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 34,5; p \leq 0,05$	19,40 ± 0,58 $T_{st1} = 21,5; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 27,4; p \leq 0,05$	59,35 ± 1,78 $T_{st1} = 10,7; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 10,3; p \leq 0,05$
Яровая мягкая пшеница сорта Надежда Кузбасса			
Вариант 1.1	17,26 ± 0,69	11,45 ± 0,46	50,16 ± 2,01
Вариант 1.2	16,98 ± 0,51 $T_{st1} = 0,6; p \leq 0,05$	11,59 ± 0,35 $T_{st1} = 0,4; p \leq 0,05$	49,86 ± 1,50 $T_{st1} = 4,6; p \leq 0,05$
Вариант 2.1	21,65 ± 0,87 $T_{st1} = 6,9; p \leq 0,05$	14,17 ± 0,57 $T_{st1} = 6,5; p \leq 0,05$	50,33 ± 2,01 $T_{st1} = 0,1; p \leq 0,05$
Вариант 2.2	19,08 ± 0,57 $T_{st1} = 3,6; p \leq 0,05$	15,03 ± 0,45 $T_{st1} = 9,7; p \leq 0,05$	51,52 ± 1,55 $T_{st1} = 0,9; p \leq 0,05$
Вариант 2.3	18,93 ± 0,76 $T_{st1} = 2,8; p \leq 0,05$	14,89 ± 0,60 $T_{st1} = 8,8; p \leq 0,05$	51,31 ± 2,05 $T_{st1} = 0,7; p \leq 0,05$
Вариант 2.4	19,37 ± 0,58 $T_{st1} = 4,1; p \leq 0,05$	15,25 ± 0,46 $T_{st1} = 10,3; p \leq 0,05$	51,67 ± 1,55 $T_{st1} = 1,0; p \leq 0,05$
Вариант 3.1	23,25 ± 0,93 $T_{st1} = 9,1; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 10,0; p \leq 0,05$	13,26 ± 0,53 $T_{st1} = 4,5; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 4,6; p \leq 0,05$	52,89 ± 2,12 $T_{st1} = 1,6; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 2,0; p \leq 0,05$
Вариант 3.2	38,33 ± 1,15 $T_{st1} = 27,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 29,7; p \leq 0,05$	27,78 ± 0,83 $T_{st1} = 30,2; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 31,1; p \leq 0,05$	54,00 ± 1,62 $T_{st1} = 3,1; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 3,3; p \leq 0,05$
Вариант 3.3	16,91 ± 0,68 $T_{st1} = 0,6; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 0,1; p \leq 0,05$	13,97 ± 0,56 $T_{st1} = 6,1; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 6,3; p \leq 0,05$	50,21 ± 2,01 $T_{st1} = 0; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 0,2; p \leq 0,05$
Вариант 3.4	39,74 ± 1,19 $T_{st1} = 28,5; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 30,8; p \leq 0,05$	28,47 ± 0,85 $T_{st1} = 30,9; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 31,8; p \leq 0,05$	55,26 ± 1,66 $T_{st1} = 3,4; p \leq 0,05$ $T_{st2} = 4,2; p \leq 0,05$

Примечание: T_{st1} – сравнение с дистиллированной водой (вариант 1.1); T_{st2} – сравнение с внесением в почву 15 т/га цеолита (вариант 1.2).

Note: T_{st1} – vs. distilled water (Variant 1.1); T_{st2} – vs. 15 t/ha zeolite in soil (Variant 1.2).

вариант 3.2 (обработка штаммом *A. vinelandii* В-932 и внесение в почву цеолита) показывал наиболее высокое содержание хлорофилла (22,89 % от сухой массы) и каротиноидов (15,01 % от сухой массы). Данные результаты превышают показатели контрольной группы (вариант 1.1 (обработка дистиллированной водой) – 11,85 и 10,60 % от сухой массы соответственно,

вариант 1.2 (внесение в почву цеолита) – 12,78 и 8,81 % от сухой массы соответственно). Обработка растений вариантом 3.2 привела к увеличению количества азота в наземной части растения (49 мг/г). Вариант 3.1 так же показал положительный результат, в котором содержание хлорофилла и каротиноидов равны 19,27 и 12,77 % соответственно, содержание азота – 48,3 мг/г.

Обработка вариантом 3.2 пшеницы сорта Памяти Афродиты продемонстрировал высокий результат по содержанию хлорофилла (31,81 % от сухой массы) и каротиноидов (19,13 % от сухой массы) по сравнению с контрольными образцами: вариант 1.1 – 15,05 и 10,57 % от сухой массы соответственно, вариант 1.2 – 13,45 и 9,25 % от сухой массы соответственно. В сухой массе растений обнаружено наибольшее количество азота – 59,04 мг/г.

В варианте 3.4 (консорциум и цеолит) обнаружено содержание хлорофилла и каротиноидов в количестве 25,34 и 18,80 % соответственно, азота – 53,97 мг/г, что может говорить о том, что совместное действие цеолита и консорциума положительно влияет на рост пшеницы сорта Памяти Афродиты.

Исследование показало, что обработка пшеницы сорта Надежда Кузбасса консорциумом с внесением в почву 1 т/га цеолита (вариант 3.4) привела к наибольшему повышению уровня хлорофилла и каротиноидов в растениях. Содержание хлорофилла и каротиноидов составило 39,74 и 28,47 % от сухой массы соответственно, азота – 55,36 мг/г, что значительно выше в сравнении с контрольными образцами.

Также положительные результаты можно наблюдать в обработке вариантом 3.2, где содержание хлорофилла и каротиноидов равно 38,33 и 27,78 % соответственно, азота – 54,00 мг/г.

Полученные данные говорят о том, что совместное использование консорциума или микроорганизма (преимущественно штамма *A. vinelandii* B-932) и цеолита оказывает высокое положительное стимулирующее действие на содержание фотосинтезирующих пигментов и азота в наземной части яровой мягкой пшеницы сортов Сибирский Альянс, Памяти Афродиты и Надежда Кузбасса.

Выводы

Результаты исследования подтверждают, что совместное использование цеолита и микроорганизмов приводит к повышению урожайности злаковых культур, улучшению их качественного состава и увеличению роста растений. Данные, полученные в ходе эксперимента, показали, что выбранные штаммы – *Azotobacter chroococcum* B-4148; *Azotobacter vinelandii* B-932; *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-548 – проявляли способность к солюбилизации

ции цеолита в диапазоне 2,5–17,7 мм. Наибольшей солюбилизующей способностью обладал *P. Chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-548 (17,7 ± 3,8 мм).

Лабораторная апробация показала, что цеолит и микроорганизмы как отдельно, так и совместно положительно влияют на рост и развитие яровой мягкой пшеницы сортов Сибирский Альянс, Памяти Афродиты, Надежда Кузбасса. Наилучший эффект наблюдали у варианта 3.4 (обработка консорциумом с внесением в почву 1 т/га цеолита) для сорта Сибирский Альянс. Так, всхожесть составила 86 %, длина побега – 183 мм, сухая масса – 42,4 %, содержание хлорофилла – 24,47 %, содержание каротиноидов – 16,21 %, азота – 51,83 %. Для сорта Памяти Афродиты – вариант 3.4, где всхожесть составила 80 %, длина побега – 157 мм, сухая масса – 31,3 %, содержание хлорофилла – 32,07 %, содержание каротиноидов – 19,40 %, азота – 59,35 %. Для сорта Надежда Кузбасса – вариант 3.4. всхожесть – 98 %, длина побега – 185 мм, сухая масса – 41,2 %, содержание хлорофилла – 39,74 %, содержание каротиноидов – 28,47 %, азота – 55,26 %.

Таким образом, проанализировав результаты лабораторной апробации, можно сделать вывод, что применение цеолита и консорциума (состав: *A. chroococcum* B-4148, *A. vinelandii* B-932 и *P. chlororaphis* subsp. *aurantiaca* B-548 в соотношении 1:3:1) положительно влияет на рост и развитие яровой мягкой пшеницы. В дальнейшем планируется проведение полевого эксперимента.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в подготовке и написании статьи.

Конфликт интересов

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

Contribution

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

Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Gavasso-Rita YL, Papalexiou SM, Li Y, Elshorbagy A, Li Z, et al. Crop models and their use in assessing crop production and food security: A review. Food and Energy Security. 2024;13(1):e503. <https://doi.org/10.1002/fes3.503>
2. Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, et al. Food security: The challenge of feeding 9 billion people. Science. 2010;327(5967):812–818. <https://doi.org/10.1126/science.1185383>
3. Lan Y, Chawade A, Kuktaite R, Johansson E. Climate change impact on wheat performance—Effects on vigour, plant traits and yield from early and late drought stress in diverse lines. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(6):3333. <https://doi.org/10.3390/ijms23063333>

4. Al-Hawamdeh F, Ayad JY, Alananbeh KM, Akash MW. Bacterial endophytes and their contributions to alleviating drought and salinity stresses in wheat: A systematic review of physiological mechanisms. *Agriculture*. 2024;14(5):769. <https://doi.org/10.3390/agriculture14050769>
5. Mozumder P, Berrens RP. Inorganic fertilizer use and biodiversity risk: An empirical investigation. *Ecological Economics*. 2007;62(3–4):538–543. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2006.07.016>
6. Mitra B, Chowdhury AR, Dey P, Hazra KK, Sinha AK, *et al.* Use of agrochemicals in agriculture: Alarming issues and solutions. In: Bhatt R, Meena RS, Hossain A, editors. *Input Use Efficiency for Food and Environmental Security*, Singapore: Springer Nature Singapore. 2021. pp. 85–122. https://doi.org/10.1007/978-981-16-5199-1_4
7. Колпакова Д. Е., Серазетдинова Ю. Р., Фотина Н. В., Заушинцева А. В., Асякина Л. К. и др. Микробная биофортификация злаковых культур: перспективы и текущее развитие. *Техника и технология пищевых производств*. 2024. Т. 54. № 2. С. 191–211. [Kolpakova DE, Serazetdinova YuR, Fotina NV, Zaushintsena AV, Asyakina LK, *et al.* Microbial biofortification of grain crops: Current state and prospects. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2024;54(2):191–211. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-94142024-2-2500>
8. Senabio JA, Silva RC, Pinheiro DG, Vasconcelos LG, Soares MA. The pesticides carbofuran and picloram alter the diversity and abundance of soil microbial communities. *PLOS One*. 2024;19(11):e0314492. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0314492>
9. Alengebawry A, Abdelkhalek ST, Qureshi SR, Wang MQ. Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: Ecological risks and human health implications. *Toxics*. 2021;9(3):42. <https://doi.org/10.3390/toxics9030042>
10. Madlala NC, Khanyile N, Masenya A. Examining the correlation between the inorganic nano-fertilizer physical properties and their impact on crop performance and nutrient uptake efficiency. *Nanomaterials*. 2024;14(15):1263. <https://doi.org/10.3390/nano14151263>
11. Ayenew BM, Satheesh N, Zegeye ZB, Kassie DA. A review on the production of nano-fertilizers and its application in agriculture. *Heliyon*. 2025;11(1):e41243. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e41243>
12. Kardala N, Wyszowski M. Zeolite properties, methods of synthesis, and selected applications. *Molecules*. 2024;29(5):1069. <https://doi.org/10.3390/molecules29051069>
13. Verma KK, Song X-P, Li D-M, Singh M, Wu J-M, *et al.* Silicon and soil microorganisms improve rhizospheric soil health with bacterial community, plant growth, performance and yield. *Plant Signaling & Behavior*. 2022;17(1):2104004. <https://doi.org/10.1080/15592324.2022.2104004>
14. Asyakina LK, Vorob'eva EE, Proskuryakova LA, Zharko MYu. Evaluating extremophilic microorganisms in industrial regions. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(1):162–171. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-556>
15. Василина Т. К., Балгабаев А. М., Шибикеева А. М., Абилдаев Е. С., Закиева А. А. Влияние цеолита и модифицированного цеолитного удобрения на агрофизические свойства темно-каштановой почвы в предгорной зоне юго-востока Казахстана. *Почвоведение и агрохимия*. 2024. № 3. С. 62–71. [Vassilina TK, Balgabaev AM, Shibikkeyeva AM, Abyldayev ES, Zakiyeva A. Effectiveness of use of zeolite in vegetable growing in the footdown zone of southeast Kazakhstan. *Soil Science and Agrochemistry*. 2024;(3):62–71. (In Russ.)] https://doi.org/10.51886/1999-740X_2024_3_62
16. Zheng J, Chen T, Chi D, Xia G, Wu Q, *et al.* Influence of zeolite and phosphorus applications on water use, P uptake and yield in rice under different irrigation managements. *Agronomy* 2019;9(9):537. <https://doi.org/10.3390/agronomy9090537>
17. Куликова А. Х., Карпов А. В., Черкасов М. С. Влияние цеолита и удобрений на его основе на урожайность кукурузы и баланс элементов питания в черноземе выщелоченном под ее посевами. *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2023. № 2. С. 69–75. [Kulikova AKh, Karpov AV, Cherkasov MS. Influence of zeolite and zeolite-based fertilizers on corn yield and balance of nutrients in leached black soil under corn crops. *Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy*. 2023;(2):69–75. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/RYNKJS>
18. Chamani HE, Amoli HF, Niknejad Y, Tari DB. Effects of zeolite and biofertilizers on yield components, yield and nutrients uptake in grains of two corn cultivars (cv. 6010 and ns71). *Journal of Plant Nutrition*. 2022;45(11):1670–1681. <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.2014876>
19. Degtyareva I, Kirillova N. Comparative evaluation of the effect of various biofertilizers in complex with zeolite on productivity and microbiocenosis of buckwheat. *Vestnik of Kazan state agrarian university*. 2024;19(4):34–40. <http://dx.doi.org/10.12737/2073-0462-2024-34-40>
20. Mondal M, Biswas B, Garai S, Sarkar S, Banerjee H, *et al.* Zeolite enhance soil health, crop productivity and environmental safety. *Agronomy*. 2021;11(3):448. <https://doi.org/10.3390/agronomy11030448>
21. Исмагулова Г. Е., Суюндукова М. Б., Суюндуков Я. Т., Мухамутдинова Г. А. Влияние природных цеолитов на плодородие почв и продуктивность сельскохозяйственных наук. *Аграрная наука*. 2008. № 7. С. 21–23. [Islamgulova GE, Suyndukova MB, Suyndukov YaT, Mukhametdinova GA. Influence of native ceolyte on soil fertility. *Agrarian Science*. 2008;(7):21–23. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/KXUWHR>
22. Дегтярева И. А., Прищепенко Е. А., Рахманова Г. Ф., Миникаев Д. Т. Оценка действия удобрений нового поколения на микробный ценоз ярового рапса. *Агрохимический вестник*. 2022. № 5. С. 65–69. [Degtyareva IA, Prishchepenko EA, Rakhmanova GF, Minikaev DT. Evaluation of action of new generation fertilizers on microbial coenosis of spring rape. *Agrochemical Herald*. 2022;(5):65–69. (In Russ.)] <https://doi.org/10.24412/1029-2551-2022-5-013>

23. Kordala N, Wyszowski M. Zeolite properties, methods of synthesis, and selected applications. *Molecules*. 2024;29(5):1069. <https://doi.org/10.3390/molecules29051069>
24. Kulikova A, Yashin E, Karpov A, Romashkin A. The effectiveness of zeolite enriched with amino acids in the cultivation of crops in the Middle Volga region (on the example of millet). *BIO Web of Conferences*. 2021;37(7):00096. <http://dx.doi.org/10.1051/bioconf/20213700096>
25. Serazetdinova Yu, Chekushkina D, Borodina E, Kolpakova D, Minina V, et al. Synergistic interaction between *Azotobacter* and *Pseudomonas* bacteria in a growth-stimulating consortium. *Foods and Raw Materials*. 2025;13(2):376–393. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2025-2-651>
26. Bist V, Niranjana A, Ranjan M, Lehri A, Seem K, et al. Silicon-solubilizing media and its implication for characterization of bacteria to mitigate biotic stress. *Frontiers in Plant Science*. 2020;11:28. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00028>
27. Faskhutdinova ER, Fotina NV, Neverova OA, Golubtsova YV, Mudgal G, et al. Extremophilic bacteria as biofertilizer for agricultural wheat. *Foods and Raw Materials*. 2024;12:348–60. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-2-613>
28. Серазетдинова Ю. Р., Фотина Н. В., Асякина Л. К., Просеков А. Ю., Неверова О. А. Роль *Bacillus amyloliquefaciens* в снижении абиотического стресса зерновых культур. XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. 2023. Т. 12. № 4. С. 178–183. [Serazetdinova YuR, Fotina NV, Asyakina LK, Prosekov AYU, Neverova OA. The role of *Bacillus amyloliquefaciens* in reducing the abiotic stress of cereals. XXI Century: Resumes of the past and challenges of the present plus. 2023;12(4):178–183. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/LBKHMF>
29. Albassam M, Aslam M. Testing internal quality control of clinical laboratory data using paired *t*-test under uncertainty. *BioMed Research International*. 2021;5527845. <https://doi.org/10.1155/2021/5527845>
30. Hindersah R, Rahmadina I, Harryanto R, Suryatmana P, Arifin M. *Bacillus* and *Azotobacter* counts in solid bio-fertilizer with different concentration of zeolite and liquid inoculant. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;667:012010. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/667/1/012010>
31. Salamatpour S, Niknezhad Y, Fallah H, Tari DB. Impacts of chemical and organic fertilizers along with silicon on agronomic traits, yield and nutrient content in rice under plant growth-promoting bacteria. *Cereal Research Communications*. 2024;53:1133–1145. <https://doi.org/10.1007/s42976-024-00591-7>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2593>
<https://elibrary.ru/KENGCB>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Расширение области применения иммунофлуоресцентного метода для определения ветеринарных лекарственных препаратов в молочных продуктах



А. А. Криницына*, А. Н. Петров^{ORCID}

Российский биотехнологический университет^{ORCID}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 24.02.2025

Принята после рецензирования: 26.03.2025

Принята к публикации: 06.05.2025

*А. А. Криницына: Anna.Krinityna@pepsico.com

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

© А. А. Криницына, А. Н. Петров, 2025



Аннотация.

Современные методы контроля остаточных количеств антибиотиков и ветеринарных препаратов в молочной продукции требуют повышения точности и расширения спектра анализируемых образцов. Иммунофлуоресцентные методы демонстрируют высокий потенциал, однако их эффективность зависит от физических и химических характеристик исследуемых продуктов, таких как массовая доля сухих веществ, белка и жира, уровень pH. Цель работы – изучить иммунный ответ иммунофлуоресцентного биоанализатора на физико-химические показатели пермеата и ретентата молочных, пахты и сливок, установить границы определения остаточных количеств антибиотиков.

Объектами исследования являлись цельное нормализованное, сырое цельное и обезжиренное молоко, сухое цельное и сухое обезжиренное молоко, сливки, пермеат и ретентат молочные, пахта и их композиционные системы. Для всех образцов проводился контроль на отсутствие остаточных ветеринарных препаратов, а также анализ их физико-химических характеристик. Все исследования проводились в пятикратной повторности. Обработка данных выполнялась с использованием программного обеспечения Unisensor S. A., Wolfram Mathematica и Microsoft Excel с надстройками «Поиск решения» и «Анализ данных».

Установлено, что одновременный учет указанных параметров позволяет минимизировать вероятность возникновения ложноотрицательных и ложноположительных результатов при детекции остаточных количеств ветеринарных препаратов. Применение данного подхода способствует повышению аналитической точности метода и воспроизводимости получаемых данных. Разработан и экспериментально верифицирован универсальный алгоритм адаптации иммунофлуоресцентного анализа к различным типам молочных продуктов. Данный алгоритм позволяет точно определять остаточные количества антибиотиков в сыром молоке, пахте, пермеате и ретентате молочных, сливках и продуктах их переработки, что свидетельствует о его практической значимости в системе контроля качества молочной продукции.

Полученные результаты имеют важное практическое значение для молочной промышленности. Внедрение предложенных методик позволит повысить стандарты безопасности продукции, что критически важно для здоровья потребителей и укрепления доверия к отрасли.

Ключевые слова. Молочные продукты, ветеринарные лекарственные препараты, безопасность, иммунофлуоресцентный метод, биохимический анализатор

Для цитирования: Криницына А. А., Петров А. Н. Расширение области применения иммунофлуоресцентного метода для определения ветеринарных лекарственных препаратов в молочных продуктах. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 521–539. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2593>

Immunofluorescence in Determining Veterinary Drugs in Dairy Products



Anna A. Krinitzyna*, Andrey N. Petrov^{ID}

Russian Biotechnological University^{ROR}, Moscow, Russia

Received: 24.02.2025
Revised: 26.03.2025
Accepted: 06.05.2025

*Anna A. Krinitzyna: Anna.Krinitzyna@pepsico.com
Andrey N. Petrov: <https://orcid.org/0000-0001-9879-482X>

© A.A. Krinitzyna, A.N. Petrov, 2025



Abstract.

The current methods for detecting residual antibiotics and veterinary drugs in dairy products require more accuracy and a wider target range. Immunofluorescence demonstrates high potential, but its efficiency depends on the physical and chemical properties of the dairy product, e.g., mass fraction of solids, protein, and fat, pH, etc. This research featured the immune response of an immunofluorescence bioanalyzer to the physicochemical parameters of milk permeate, milk retentate, buttermilk, and cream in order to establish the limits of determination of residual antibiotics.

The experiment involved whole standardized milk, raw whole milk, skim milk, whole milk powder, skim milk powder, cream, milk permeate, milk retentate, buttermilk, and their composite systems. All samples were tested for residual veterinary drugs and physicochemical profile (five replications). The data obtained were processed in Unisensor S. A., Wolfram Mathematica, and Microsoft Excel (Solver and Data Analysis add-ins).

A simultaneous consideration of the specified parameters minimized the probability of false negative and false positive results in detecting residual veterinary drugs. The approach increased the analytical accuracy and reproducibility. The research yielded a universal algorithm for adapting immunofluorescence analysis to various types of dairy products. This algorithm provided accurate determination of residual amounts of antibiotics in raw milk, buttermilk, permeate, retentate, cream, and processed dairy products, which indicated its practical significance in dairy quality control.

If implemented on commercial scale, the new method will improve the current dairy safety standards, strengthen consumers' trust in the domestic dairy industry, and improve their health.

Keywords. Dairy products, veterinary drug, safety, immunofluorescence, biochemical analyzer

For citation: Krinitzyna AA, Petrov AN. Immunofluorescence in Determining Veterinary Drugs in Dairy Products. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):521–539. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2593>

Введение

Неконтролируемое применение антибиотиков для лечения и профилактики заболеваний животных способствует загрязнению продуктов питания как животного, так и растительного происхождения [1, 2]. Циркуляция антибиотиков в биосфере способствует распространению устойчивых к лекарственным средствам штаммов микроорганизмов, что усложняет борьбу с инфекционными заболеваниями у людей и животных [4]. Бесконтрольное применение антибиотиков приводит к тому, что их остаточные количества попадают в продукты животного происхождения, оказывая негативное воздействие на здоровье человека [3].

Государственные программы «Стратегия повышения качества пищевой продукции в РФ до 2030 г.» и «Укрепление общественного здоровья» нацелены на контроль качества пищевых продуктов. Эти инициативы утверждены Правительством и Минздравом РФ в рамках национального проекта «Демография».

Это не только вопрос здоровья населения, но и ключевой аспект продовольственной безопасности страны. Актуальность данного исследования обусловлена внедрением в России новых требований безопасности, утвержденных Решением Совета ЕЭК № 70, которые включены в технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021 и охватывают полный перечень фармакологически активных веществ, обеспечивая дополнительную защиту здоровья потребителей. Обеспечение безопасности пищевых продуктов требует разработки и совершенствования высокочувствительных и высокопроизводительных методов детекции антибиотиков и лекарственных препаратов. Решение поставленных в данной работе задач связано с ужесточением контроля над применением антибиотиков в ветеринарии.

В настоящее время разработано множество методов для анализа остатков антибиотиков в пищевых продуктах, от быстрого скрининга до подтверждающих методов. В таких нормативных документах как

ГОСТ 32219-2013 «Молоко и молочные продукты. Иммуноферментные методы определения наличия антибиотиков», ГОСТ 32254-2013 «Молоко. Инструментальный экспресс-метод определения антибиотиков», ГОСТ 33526-2015 «Молоко и продукты переработки молока...», для определения антибиотиков используются хроматографические методы в сочетании с масс-спектрометрией. В 2021 г. разработан и утвержден ГОСТ Р 59507-2021 «Молоко и молочное сырье. Определение наличия остаточного содержания антибиотиков и лекарственных веществ иммунологическими методами», где для определения остаточного содержания лекарственных препаратов применяются иммунологические методы.

Нормативные документы и апробированные в лабораторной практике методы, с использованием ВЭЖХ (в сочетании с масс-спектрометрией), имеют ряд существенных недостатков – сложная подготовка образцов, долгая продолжительность анализа и значительные затраты ресурсов. Кроме того, они не предназначены для массового контроля, а также не всегда обеспечивают необходимую точность и чувствительность при определении остаточных количеств анти-

биотиков и лекарственных веществ в соответствии с установленными нормами [5–7].

Иммунофлуоресцентный метод, основанный на специфичном сродстве антител, меченных флуоресцентной меткой, целевому агенту, обладая рядом существенных преимуществ, представляет собой альтернативу ВЭЖХ-МС/МС. Его использование сокращает время анализа, по сравнению с ВЭЖХ-МС/МС [8–9].

В практике молочной промышленности иммунофлуоресцентный метод активно применяется для контроля лекарственных препаратов. Биоанализатор EXTENSO (Unisensor S. A., Бельгия) представляет собой иммунохимический анализатор с флуоресцентной детекцией. Он является единственным зарегистрированным в России средством измерения, с доказанной эффективностью в обеспечении полного контроля спектра нормируемых фармакологически активных веществ [10]. Благодаря данной аналитической системе определяются до 100 наименований загрязнителей (табл. 1).

Существенным ограничением биоанализатора является относительно ограниченный список исследуемых объектов: сырое, пастеризованное, восстановленное и обезжиренное молоко. Этот перечень не отражает

Таблица 1. Пределы обнаружения остаточного содержания антибиотиков и лекарственных веществ иммунофлуоресцентным методом в молочных продуктах

Table 1. Residual antibiotics and medicinal substances in dairy products: Immunofluorescence detection limits

Группы антибиотиков / лекарственных веществ	Антибиотики / лекарственные вещества	Порог определения, мкг/кг	Решение № 70, мкг/кг
β -лактамы-пенициллины	Амоксициллин	3	4
	Ампициллин	4	4
	Бензилпенициллин (Пен G)	2	< 4
	Клоксациллин	12	30
	Нафциллин	350	30
	Диклоксациллин	8	30
	Оксациллин	16	30
β -лактамазные ингибиторы	Клавулановая кислота	> 20000	200
β -лактамы-цефалоспорины	Цефалониум	3	20
	Цефазолин	9	не нормируется
	Цефоперазон	3	50
	Цефкином	14	20
	Цефтиофур	8	100
	Дезфлюорилцефтиофур	60	100
	Цефепим	4	10
	Дезацетилцефепим	16	10
	Цефазетрил	9	125
	Цефалексин	4	100
Фениколы	Хлорамфеникол – левомецетин	0,15–0,25	0,30
Полимиксины	Колистин	30	50
Аминогликозиды	Гентамицин (C_1 , C_{1a} , C_2 , C_{2a})	2–5	100
	Канамицин А	1	150
	Неомицин В	1000	1500
	Фрамицетин	–	не нормируется
	Дигидрострептомицин	50–100	не нормируется
	Стрептомицин	50–100	< 200

Продолжение таблицы 1

Группы антибиотиков / лекарственных веществ	Антибиотики / лекарственные вещества	Порог определения, мкг/кг	Решение № 70, мкг/кг
Макролиды	Эритромицин	30	40
	Спирамицин	100	200
	Неоспирамицин	100	не нормируется
	Тилозин А	2–5	50
	Тилмикозин	2–5	50
Линкозамиды	Линкомицин	3–5	150
	Клиндамицин	1–3	не нормируется
	Пирлимицин	15–25	100
Сульфаниламиды	Сулфадиазин	3	25
	Сульфамеразин	1	25
	Сульфадиметоксин	5	25
	Сульфаметазин	1	25
	Сульфаметоксазол	100	25
	Сульфаквиноксалин	4	25
	Сульфамонометоксин	2	25
	Сульфаметоксипиридазин	1	25
	Сульфазотоксипиридазин	< 25	25
	Сульфазалазин	115	25
	Сульфапиридин	1	25
	Сульфаклоропиридазин	8	25
	Сульфагуанидин	7	25
	Сульфатиазол	3	25
	Сульфисоксазол	< 25	25
	Сульфаметизол	150	25
	Сульфаметер	2	25
	Сульфамоксол	1	25
Производные пиридина	Баквиприм	25–35	30
	Триметоприм	1–2	50
Тетрациклины	Тетрациклин	9	< 10
	Хлортетрациклин	5	< 10
	Окситетрациклин	9	< 10
	Доксициклин	3	< 10
Хинолоны	Данофлоксацин	14	30
	Энрофлоксацин	14	100 в сумме
	Ципрофлоксацин	16	100 в сумме
	Пефлоксацин	10–15	100 в сумме
	Офлоксацин	10–15	100 в сумме
	Марбофлоксацин	14	75
	Норфлоксацин	20	100 в сумме
	Флумеквин	25	50
	Левифлоксацин	< 1	не нормируется

весь спектр современных потребностей и возможностей иммунофлуоресцентного метода. В первую очередь, необходим контроль именно сырья, так как оно – основа для производства ряда функциональных и специализированных молочных продуктов, включая детское питание. Расширению ассортимента тестируемых молочных продуктов препятствует отсутствие научно обоснованного диапазона физико-химических параметров для существующего иммунофлуоресцентного метода. Без такого диапазона невозможно гарантиро-

вать получение адекватных результатов с помощью иммунохимического биоанализатора.

Особенности иммунофлуоресцентного метода объясняют сложности, возникающие при анализе таких продуктов, как пермеат и ретентат молочные, а также пахты, и препятствующие расширению списка тестируемых образцов. Избирательность антител, взаимодействующих только с определенными антигенами, затрудняет точное определение общего содержания белка в образце. Например, в ретентате молочном около 9 % белка,

но антитела реагируют лишь с его частью, что может привести к возможным ошибкам. Дополнительную сложность создает высокое содержание жиров в образцах, которое блокирует доступ антителам к клеточным поверхностям и изменяет морфологию клеток, ухудшая их распознавание. Кроме того, жир способен поглощать и рассеивать свет, ослабляя флуоресценцию и мешая визуализации сигналов [11–12].

Другой причиной отсутствия корректности в работе биоанализатора является высокая концентрация сухих веществ, что негативно влияет на стабильность белков, включая антитела и антигены. Сахара и соли в больших количествах вызывают денатурацию белков, изменяя их структуру, что ведет к потере антителами способности связываться с антигенами. Помимо этого, некоторые компоненты сухих веществ могут конкурировать с антигенами за сайты связывания на антителах. Например, полисахариды или другие макромолекулы при определенных условиях способны соединиться с антителами, занимая места, предназначенные для антигенов. Высокие концентрации сухих веществ способствуют формированию комплексов между антителами и другими компонентами, такими как лиганды или примеси, что препятствует доступу антител к антигенам. Изменение концентрации сухих веществ влияет на pH продукта и его ионную силу, что отражается на структуре и функции белков, включая антитела и антигены [13].

Высокая специфичность взаимодействия антитела и антигена, обусловленная соответствием формы их активных центров (эпитопов), может нарушаться под воздействием кислотности среды (pH). Изменение pH приводит к деформации молекул антител и антигенов и к нарушению их совместного функционирования. При низких значениях pH (кислой среде) белки могут денатурироваться, меняя свою трехмерную структуру, что ухудшает доступность эпитопов для антител или полностью разрушает их структуру, делая их невидимыми для антител. Низкие значения pH изменяют заряд антител и антигенов, что существенно сказывается на их способности к взаимодействию [14]. Высокие концентрации сухих веществ способствуют формированию комплексов между антителами и другими компонентами, что препятствует доступу антител к антигенам. Изменение концентрации сухих веществ влияет на pH продукта и его ионную силу, что, в свою очередь, воздействует на структуру и функции белков, включая антитела. В составе молока и его производных лимитирующими физико-химическими характеристиками являются массовые доли белка, жира и сухих веществ, а также активная кислотность. Соответственно, влияние данных показателей на связывание антител с антигенами является ожидаемым [11–14]. В связи с широким диапазоном варьирования численных значений, существует вероятность того, что лишь ограниченное их сочетание может быть оптимальным для выявления антигена иммунофлуоресцентным методом.

Установленные факты, рассуждения и предположения приводят к необходимости определить систему корректных интервалов варьирования данных факторов для обеспечения возможности фиксирования присутствия в среде целевых антигенов представляет собой весьма актуальную задачу. Ее решение позволит расширить возможности детекции антибиотиков и лекарственных веществ в таких видах молочного сырья, как пермеат и ретентат молочные, пахта и сливки.

В ходе исследований иммунофлуоресцентного метода было выдвинуто и подтверждено предположение. При определенных условиях пробоподготовки возможно эффективное выявление остаточных количеств антибиотиков и лекарственных веществ. Причем, не только в сыром, пастеризованном, восстановленном и обезжиренном молоке, но и в других молочных продуктах, таких как пермеат и ретентат молочные, пахта и сливки.

Цель работы – изучить иммунный ответ иммунофлуоресцентного биоанализатора на физико-химические показатели пермеата и ретентата молочных, пахты и сливок, установить границы определения остаточных количеств антибиотиков.

Для достижения поставленной цели должны быть реализованы следующие задачи:

- исследовать характеристики, определяющие применимость иммунофлуоресцентного метода для качественного определения содержания антибиотиков в объектах исследования, с целью оценки влияния различных стадий пробоподготовки на увеличение точности аналитических измерений;
- разработать многоэтапный эмпирический подход для определения оптимальных интервалов значений ключевых факторов;
- разработать и экспериментально подтвердить универсальный алгоритм применимости иммунофлуоресцентного анализа для определения остаточных количеств антибиотиков в различных видах молочных продуктов и продуктах их переработки, включая молоко, пахту, пермеат молочный, ретентат молочный и сливки;
- провести обсуждение полученных результатов исследования.

Объекты и методы исследования

Для установления границ определения антибиотиков и лекарственных препаратов в качестве модельных объектов выбраны: молоко цельное нормализованное, сырое цельное и обезжиренное молоко, сухое цельное (СЦМ) и сухое обезжиренное (СОМ) молоко, сливки, пермеат и ретентат молочные, пахта, а также системы на их основе.

В начале исследования все анализируемые продукты были проверены на отсутствие остаточных антибиотиков в соответствии с требованиями ГОСТ Р 59507-2021. Определение массовых долей белка (ГОСТ 34454-2018), жира (ГОСТ 5867-90) и сухих веществ (ГОСТ 3626-73) проводилось согласно указанным выше стандартам.

Определены значения рН во всех модельных объектах, кроме СЦМ и СОМ. Для них показатель рН определен расчетным путем на основании измеренных значений рН в восстановленных образцах молока по формуле:

$$pH_{dm} = -\lg \left[\frac{10^{2-pH_m} - (100 - w_{dm}) \times 10^{-pH_w}}{w_{dm}} \right] \quad (1)$$

где pH_{dm} – расчетное значение рН в СЦМ и СОМ, ед.; pH_m – рН восстановленного молока, ед.; pH_w – рН воды, используемой для восстановления, ед.; w_{dm} – массовая доля СОМ или СЦМ в составе восстановленного молока, %.

Определение состава сливок для анализа является сложной задачей. Согласно концепции аддитивного формирования значений ключевых показателей, на первом этапе необходимо установить значения рН и массовых долей смеси сливок с СЦМ. Это можно сделать на основании уравнений аддитивности и представления о рН как логарифмическом отражении концентрации катионов H^+ :

$$\begin{cases} \omega_{p(a)} = \frac{\omega_{p(c)} \times \omega_c + \omega_{p(dm)} \times (100 - \omega_c)}{100} \\ \omega_{f(a)} = \frac{\omega_{f(c)} \times \omega_c + \omega_{f(dm)} \times (100 - \omega_c)}{100} \\ \omega_{s(a)} = \frac{\omega_{s(c)} \times \omega_c + \omega_{s(dm)} \times (100 - \omega_c)}{100} \\ pH_a = -\lg \left[\frac{10^{-pH_c} \times \omega_c + 10^{-pH_{dm}} \times (100 - \omega_c)}{100} \right] \end{cases} \quad (2)$$

где $\omega_{p(c)}$, $\omega_{f(c)}$, $\omega_{s(c)}$ – массовые доли белка, жира и сухих веществ в сливках, соответственно, %; pH_c – рН сливок, ед.; $\omega_{p(dm)}$, $\omega_{f(dm)}$, $\omega_{s(dm)}$ – массовые доли белка, жира и сухих веществ в СЦМ, соответственно, %; pH_{dm} – расчетное значение рН СЦМ, определенное по формуле (1), ед.; $\omega_{p(a)}$, $\omega_{f(a)}$, $\omega_{s(a)}$ – массовые доли белка, жира и сухих веществ в смеси «сливки – СЦМ», соответственно, %; pH_a – рН смеси «сливки – СЦМ», ед.; ω_c – массовая доля сливок в смеси «сливки – СЦМ», %.

В результате формирования смеси неизбежно происходит разбавление остаточного количества антибиотиков (при их наличии в сливках) в k_1 раз:

$$k_1 = \frac{100}{\omega_c} = f_{k_1}(\omega_c) \quad (3)$$

На втором этапе смесь «сливки – СЦМ» необходимо разбавить дистиллированной водой. Для каждого из ключевых показателей необходимая степень разбавления будет разной. Предельные значения степени разбавления, необходимые для достижения нижних границ соответствующих интервалов, рассчитаны по формуле:

$$\begin{cases} k_p^u = \frac{\omega_{p(a)}}{\omega_{p(\min)}} \\ k_f^u = \frac{\omega_{f(a)}}{\omega_{f(\min)}} \\ k_s^u = \frac{\omega_{s(a)}}{\omega_{s(\min)}} \\ k_{pH}^u = -\lg \left[\frac{10^{-pH_a} + 10^{-pH_w}}{10^{-pH_{\max}} + 10^{-pH_w}} \right] \end{cases} \quad (4)$$

где k_p^u , k_f^u , k_s^u – степени разбавления, необходимые для достижения нижних границ интервалов массовых долей белка, жира и сухих веществ в образце, соответственно, раз; k_{pH}^u – степень разбавления, необходимая для достижения верхней границы интервала рН в образце (ей соответствует минимум концентрации катионов H^+), раз; $\omega_{p(\min)}$, $\omega_{f(\min)}$, $\omega_{s(\min)}$ – нижние границы оптимальных интервалов массовых долей белка, жира и сухих веществ в образце, соответственно, %; $pH_{\max}$ – верхняя граница оптимального интервала рН в образце, ед.; pH_w – рН дистиллированной воды, ед.

Формула расчета k_{pH}^u получена на основе принципов аддитивного формирования рН системы при разбавлении водой, учитывая кратность разбавления:

$$10^{-pH_{\min}} = \frac{10^{-pH_a} + 10^{-pH_w} \times (k_{pH}^u - 1)}{k_{pH}^u} \quad (5)$$

По аналогии установлены минимальные значения степени разбавления, необходимые для достижения верхних границ соответствующих интервалов:

$$\begin{cases} k_p^d = \frac{\omega_{p(a)}}{\omega_{p(\max)}} \\ k_f^d = \frac{\omega_{f(a)}}{\omega_{f(\max)}} \\ k_s^d = \frac{\omega_{s(a)}}{\omega_{s(\max)}} \\ k_{pH}^d = -\lg \left[\frac{10^{-pH_a} + 10^{-pH_w}}{10^{-pH_{\min}} + 10^{-pH_w}} \right] \end{cases} \quad (6)$$

где k_p^d , k_f^d , k_s^d – степени разбавления, необходимые для достижения верхних границ интервалов массовых долей белка, жира и сухих веществ в образце, соответственно, раз; k_{pH}^d – степень разбавления, необходимая для достижения нижней границы интервала рН в образце (ей соответствует максимум концентрации катионов H^+), раз; $\omega_{p(\max)}$, $\omega_{f(\max)}$, $\omega_{s(\max)}$ – верхние границы оптимальных интервалов массовых долей белка, жира и сухих веществ в образце, соответственно, %; $pH_{\min}$ – нижняя граница оптимального интервала рН в образце, ед.

Поскольку результатом пробоподготовки должен стать образец, значения ключевых показателей которого должны находиться внутри соответствующих

интервалов, следовательно, верхняя допустимая граница разбавления для каждой массовой доли сливок в смеси «сливки – СЦМ» k_2^u будет соответствовать интегральному минимуму из соответствующих ей значений предельных степеней разбавления:

$$k_2^u = \{k_p^u; k_f^u; k_s^u; k_{pH}^u\}_{\min} = f_{k_2^u}(\omega_c) \quad (7)$$

По аналогии, минимальная допустимая граница разбавления для каждой массовой доли сливок в смеси «сливки – СЦМ» k_2^d будет соответствовать интегральному максимуму из соответствующих ей значений минимальных степеней разбавления:

$$k_2^d = \{k_p^d; k_f^d; k_s^d; k_{pH}^d\}_{\max} = f_{k_2^d}(\omega_c) \quad (8)$$

Как показали результаты исследований с образцами на основе сливок, эти две границы имеют некоторую точку пересечения k_2 при определенном значении ω_c , где

$$f_{k_2^u}(\omega_c) = f_{k_2^d}(\omega_c)$$

Значение k_2 в этом случае представляет собой фундаментальный предел разбавления системы «сливки – СЦМ» дистиллированной водой.

Известна степень разбавления на каждом из двух этапов. Это позволяет определить допустимый максимум (K^u) и минимум (K^d) интегральных степеней разбавления. Кроме того, для каждого значения ω_c можем вычислить значение фундаментального интегрального предела разбавления K :

$$\begin{cases} K^u = k_1 \times k_2^u \\ K^d = k_1 \times k_2^d \\ K = k_1 \big|_{f_{k_2^u}(\omega_c) = f_{k_2^d}(\omega_c)} \times k_2 \end{cases} \quad (9)$$

Таблица 2. Концентрация антибиотиков в исследуемых образцах

Table 2. Concentration of antibiotics in the samples

Антибиотик	Массовая доля, мкг/кг
Беталактамы	20
Хлорамфеникол	0,2
Цефалексин	10
Колистин	35
Эритромицин	35
Гентамицин	50
Линкозамиды	25
Неомицин	1000
Спирамицин	100
Стрептомицин	100
Сульфонамиды	25
Тетрациклины	10
Триметоприм	5
Тилозин	40
Канамицин	5

На основании данных о границах разбавлений можно определить границы массовой доли дистиллированной воды в системе «смесь – вода» для завершения пробоподготовки:

$$\begin{cases} \omega_w^u = 100 \times \frac{k_2^u - 1}{k_2^u} = f_{\omega_w^u}(\omega_c) \\ \omega_w^d = 100 \times \frac{k_2^d - 1}{k_2^d} = f_{\omega_w^d}(\omega_c) \\ O = 100 \times \frac{k_2 - 1}{k_2} \end{cases} \quad (10)$$

где ω_w^u и ω_w^d – верхняя и нижняя границы интервала допустимых массовых долей дистиллированной воды в системе «смесь – вода», соответственно, %; O – фундаментальный интегральный предел массовой доли дистиллированной воды в системе «смесь – вода», %.

Состав и дозировка антибиотиков в контаминированных образцах представлен в таблице 2. В контрольные варианты антибиотики не добавляли.

Исследования по установлению присутствия антибиотиков проводили на иммунохимическом биоанализаторе EXTENSO с флуоресцентной детекцией, укомплектованном тест-набором для проведения анализа по протоколу, предоставленному компанией разработчиком.

Все результаты, полученные в ходе исследования, обработаны с использованием программного обеспечения Unisensor S. A., Wolfram Mathematica и табличного процессора Microsoft Excel с установленными надстройками «Поиск решения» и «Анализ данных». Все анализы проводили в пятикратной повторности.

Результаты и их обсуждение

Для определения ориентиров поиска допустимых интервалов варьирования ключевых факторов анализируемых сред исследован приборный отклик иммунофлуоресцентной методики выявления присутствия антибиотиков в контаминированных парах образцов молока сырого цельного и обезжиренного, пермеата и ретентата молочных, а также пахты, имеющие различные значения pH, массовой доли сухих веществ, белка и жира (табл. 3).

Анализ влияния физико-химических характеристик объектов на инструментальное определение антибиотиков показал положительные результаты для пахты и обезжиренного молока, но ложноотрицательные – для пермеата и ретентата молочных. Вариации состава сырого цельного молока выявили двойственность результатов: при минимальных значениях показателей антибиотики обнаружены, при максимальных – ложноотрицательный результат.

Допустимый интервал массовой доли сухих веществ – 6–12 %. Для белка оптимальный интервал – 2–4 %, но выявлен образец с ложноотрицательным результатом (3,6 %). Результаты анализа pH и массовой

Таблица 3. Влияние физико-химических характеристик объектов исследования на эффективность инструментального определения антибиотиков

Table 3. Effect of physicochemical profile of dairy products on the efficiency of instrumental determination of antibiotics

Модельный объект	Сухие вещества, %	Белки, %	Жиры, %	pH, ед.	Результат приборного определения антибиотиков
Молоко цельное нормализованное	12	2,8	2,5	6,7	обнаружено
	18	3,6	9,9	6,5	не обнаружено
Молоко сырое обезжиренное	8	2,8	0,05	6,7	обнаружено
	9	3,6	0,05	6,5	обнаружено
Пермеат молочный	5	0,2	0,01	6,9	не обнаружено
	6	0,4	0,01	6,4	не обнаружено
Ретентат молочный	16	9,0	0,2	6,7	не обнаружено
	17	10,0	0,5	6,6	не обнаружено
Пахта	6	2,0	0,5	6,6	обнаружено
	10	4,0	2,0	6,5	обнаружено

Таблица 4. Приборный отклик на наличие антибиотиков в контаминированном пермеате молочном с сухим цельным молоком

Table 4. Instrumental response to antibiotics in contaminated milk permeate with whole milk powder

Соотношение, %		Массовая доля, %			pH, ед.
Пермеат молочный	СЦМ	Белки	Жиры	Сумма сухих веществ	
100	0	0,22	0,01	5,50	6,80
96	4	1,62	1,51	10,95	6,60
93	7	1,85	1,73	12,49	6,60
92*	8	2,05	2,10	13,00	6,50
91	9	2,26	2,14	13,64	6,46

Примечание: * – вариант с положительным приборным откликом.

Note: * – positive instrumental response.

доли жира оказались противоречивыми. Изначально наблюдались разные значения для обоих образцов ретентата молочного, а также для других образцов. Однако, дальнейший анализ показал, что если рассматривать определенные диапазоны, то оба образца ретентата молочного попадают в один диапазон как по массовой доле жира (0,05–2,5 %), так и по pH (6,5–6,7). В этом же диапазоне pH находятся также один образец пермеата молочного и образец сырого цельного молока с ложноотрицательным результатом.

Предполагается, что на точность прибора влияет совокупность факторов. Для проверки изучались образцы контаминированного пермеата молочного, разбавленного сухим цельным молоком (СЦМ). Массовая доля пермеата молочного 91–100 % (табл. 4).

Предварительно СЦМ протестировано на отсутствие остаточных количеств антибиотиков в соответствии с требованиями ГОСТ Р 59507-2021.

Результаты оценки массовой доли сухих веществ в исследованных системах с содержанием пермеата молочного 93 и 96 % показали соответствие установ-

ленным ранее интервалам. Однако, методика продемонстрировала положительную реакцию только тогда, когда массовые доли белка и жира, а также pH находились в соответствующих интервалах. Данный факт подтверждает изначальное предположение о комплексном воздействии четырех ключевых показателей. Также установлено расширение верхнего предела оптимального диапазона массовой доли сухих веществ до 13,00–13,64 %. Значения массовых долей белка и жира, а также pH в системе «пермеат молочный – СЦМ» при содержании пермеата молочного 92 % находятся вблизи нижних границ интервалов. Это обосновывает возможность модификации пермеата молочного путем пробоподготовки, чтобы сделать иммунофлуоресцентный метод определения остатков ветеринарных препаратов пригодным и для анализа пермеата молочного. Корректировка состава молочного сырья позволит добиться соответствия параметрам, обеспечивающим корректную работу метода.

Для доказательства, либо опровержения данного предположения проведено исследование влияния статистической вариативности значений ключевых показателей на применимость нормализации образцов для достижения оптимальных условий применимости иммунофлуоресцентного метода. Для этого были приготовлены пять пар систем «пермеат молочный – СЦМ» с идентичными соотношениями ингредиентов 92:8. Каждый образец исследовали в двух вариантах – исходном (холостая проба) и контаминированном антибиотиками (контаминированная проба) (табл. 5).

В каждом образце, контаминированном антибиотиком, методика иммунофлуоресцентного анализа позволила обнаружить его наличие, несмотря на вариативность ключевых факторов. Анализ холостых проб показал отсутствие ложноположительного отклика. То есть, в образцах с пермеатом молочным удалось однозначно определить присутствие остаточных количеств ветеринарных препаратов.

Таблица 5. Оценка влияния метода пробоподготовки на чувствительность детектирования пермеата молочного

Table 5. Effect of sample preparation on detection efficiency in milk permeate

Проба	Массовая доля, %			pH, ед.	Результат приборного анализа антибиотиков
	Белки	Жиры	Сумма сухих веществ		
Холостая	2,05	2,10	13,01	6,46	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	2,10	2,00	12,80	6,50	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	2,07	2,12	13,00	6,40	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	2,00	2,06	12,00	6,52	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	2,12	2,10	13,00	6,46	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено

Введение СЦМ в пермеат молочный привело к изменению баланса показателей. На основе результатов, полученных с системой «пермеат молочный – СЦМ» и с учетом влияния ключевых факторов пермеата молочного, исследовали приборный отклик методики. Для этого использовались образцы молока, восстановленного из сухого обезжиренного (СОМ) и СЦМ, с массовой долей сухого молока от 4 до 15 % с шагом 0,5 % (табл. 6).

Иммунофлуоресцентный метод продемонстрировал удовлетворительную работу на восстановленном молоке из СОМ в диапазоне массовых долей от 6,5 до 14,0 %, а из СЦМ – в диапазоне от 9,0 до 13,0 %. Более узкий интервал для СЦМ, вероятно, объясняется двумя причинами. Во-первых, недостаточным количеством белка при массовой доле сухого молока ниже нижней допустимой границы. Во-вторых, избытком сухих веществ, когда массовая доля сухого молока превышает верхнюю допустимую границу. Интегральный анализ данных, представленных в таблице 6, позволил сдвинуть верхние границы всех ключевых показателей в большую сторону: массовые доли белка, жира и сухих веществ – до 4,62; 3,42 и 13,46 % соответственно, а pH – до 6,8. С большой долей вероятности, pH 6,81 является предельным верхним значением. В образце с 7,0 % СОМ все факторы, кроме pH, соответствуют допустимым интервалам. При этом pH 6,81, вероятно, выходит за пределы нормы.

Возможно, что при сочетании ретената молочного и сливок, которые индивидуально не поддаются иммунофлуоресцентному анализу, могут формироваться композиции, способные обеспечить точный аналитический сигнал.

Анализ состава и pH ретената молочного показал, что для попадания в предполагаемые диапазоны допустимых значений ключевых показателей его достаточно приблизительно вдвое разбавить дистиллированной водой. В соответствии с этим были приготовлены пять образцов. По аналогии с пермеатом молочным, каждый

образец исследовали в двух вариантах – исходном (холостая проба) и контаминированном антибиотиками (контаминированная проба). Результаты исследования представлены в таблице 7.

Результат с использованием пробоподготовки показал отсутствие ложноотрицательных результатов, что указывает на условия расширения области применения иммунофлуоресцентного метода и на ретенат молочный.

В отношении сливок результаты предварительных исследований показали невозможность получения систем с адекватно выявляемыми антибиотиками простым разбавлением дистиллированной водой, либо комбинированием с СЦМ. Расчеты показали, что существует вероятность получения положительного отклика в системе, содержащей дистиллированную воду и смесь сливок с СЦМ. Это возможно при массовой доле дистиллированной воды от 35,0 до 90,0 %, а также при содержании сливок в смеси с СЦМ не менее 50,0 %.

Для экспериментальной верификации гипотезы подготовлены серии смесей сливок и СЦМ в диапазоне концентраций от 50,0 до 95,0 % с шагом 5,0 %. В качестве контроля взяты сливки без СЦМ (массовая доля сливок в смеси 100 %). При этом из каждого варианта, включая контроль, были приготовлены системы «смесь – вода» с массовой долей дистиллированной воды от 35,0 до 90,0 % с шагом 5,0 %. В силу многообразия вырабатываемых вариантов сливок, для исследований взяты сливки с массовой долей жира 10 и 35 %. Полученные результаты при использовании сливок с массовой долей жира 10 % приведены в таблицах 8–11.

Результаты исследований показали справедливость выдвинутых предположений как минимум для сливок с массовой долей жира 10 %. Положительный приборный отклик выявлен только в 17 из 132 исследованных вариантов. При этом среди данных вариантов большей массовой доле дистиллированной воды в системе «10 % сливки – СЦМ – вода» нелинейно соответствовала

большая массовая доля СЦМ. При большем разбавлении водой для положительного отклика требовалось большее присутствие СЦМ. Отметим, что остаточные количества антибиотиков в 10 % сливках были обнаружены при минимальном разбавлении смеси «10 % сливки – СЦМ» дистиллированной водой и минималь-

ном содержании СЦМ в этой смеси. Для данного вида сливок предельная массовая доля дистиллированной воды составляет не более 40,0 %, тогда как массовая доля СЦМ в смеси может быть менее 10,0 %. Результаты исследования 10 % сливок позволили увеличить верхнюю границу допустимого интервала массовой

Таблица 6. Отклик биоанализатора на наличие антибиотиков в контаминированных системах «СОМ – вода» и «СЦМ – вода»

Table 6. Response to antibiotics in contaminated systems: skim milk powder – water and whole milk powder – water

Компоненты системы, %		Система «СОМ – вода»				Система «СЦМ – вода»			
СОМ / СЦМ	Вода	Белки, %	Жиры, %	Сумма сухих веществ, %	рН, ед.	Белки, %	Жиры, %	Сумма сухих веществ, %	рН, ед.
15,0	85,0	5,00	0,14	14,41	6,53	3,51	3,79	14,95	6,49
14,5	85,5	4,82	0,12	13,91	6,55	3,39	3,63	14,47	6,53
14,0	86,0	4,62	0,18	13,45	6,56	3,29	3,53	13,92	6,53
13,5	86,5	4,45	0,17	12,95	6,58	3,13	3,42	13,46	6,57
13,0	87,0	4,30	0,18	12,43	6,56	3,05	3,25	12,98	6,55
12,5	87,5	4,13	0,15	11,96	6,60	2,90	3,16	12,44	6,57
12,0	88,0	3,99	0,14	11,53	6,62	2,83	2,99	11,94	6,59
11,5	88,5	3,82	0,14	11,02	6,61	2,69	2,91	11,44	6,59
11,0	89,0	3,68	0,15	10,59	6,65	2,56	2,78	11,00	6,61
10,5	89,5	3,46	0,11	10,06	6,66	2,48	2,61	10,47	6,64
10,0	90,0	3,32	0,10	9,58	6,67	2,38	2,47	9,96	6,67
9,5	90,5	3,16	0,13	9,09	6,70	2,23	2,38	9,49	6,69
9,0	91,0	2,96	0,13	8,61	6,71	2,11	2,27	8,94	6,69
8,5	91,5	2,80	0,11	8,19	6,72	1,95	2,15	8,49	6,70
8,0	92,0	2,65	0,05	7,64	6,75	1,89	1,98	7,98	6,73
7,5	92,5	2,46	0,11	7,18	6,76	1,73	1,92	7,45	6,75
7,0	93,0	2,28	0,05	6,68	6,81	1,66	1,75	7,00	6,79
6,5	93,5	2,15	0,05	6,20	6,80	1,52	1,65	6,47	6,81
6,0	94,0	2,02	0,04	5,72	6,83	1,42	1,50	6,02	6,85
5,5	94,5	1,86	0,06	5,31	6,86	1,26	1,36	5,50	6,87
5,0	95,0	1,63	0,04	4,82	6,90	1,17	1,27	4,99	6,91
4,5	95,5	1,47	0,04	4,30	6,94	1,02	1,12	4,47	6,92
4,0	96,0	1,31	0,03	3,85	6,97	0,90	0,99	3,97	6,94

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 7. Отклик биоанализатора на отсутствие / наличие антибиотика в ретенате молочном (с учетом пробоподготовки) и приборного отклика

Table 7. Effect of sample preparation on response to antibiotic in milk retentate

Проба	Массовая доля, %			рН, ед.	Результат приборного анализа антибиотиков
	Белки	Жиры	Сумма сухих веществ		
Холостая	4,88	0,32	8,46	6,77	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	4,82	0,21	8,36	6,78	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	4,72	0,20	8,62	6,79	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	5,28	0,19	9,78	6,78	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено
Холостая	5,42	0,22	9,72	6,77	не обнаружено
Контаминированная					обнаружено

Таблица 8. Массовая доля белка в системе «10 % сливки – СЦМ – вода»

Table 8. Mass fraction of protein in 10% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	8,50	7,88	7,23	6,58	5,90	5,22	4,55	3,96	3,26	2,62	2,00	1,33
55,0	45,0	7,87	7,26	6,67	6,06	5,41	4,80	4,19	3,64	3,02	2,42	1,81	1,19
60,0	40,0	7,17	6,60	6,04	5,53	4,96	4,45	3,83	3,28	2,76	2,23	1,65	1,13
65,0	35,0	6,48	6,02	5,53	5,00	4,54	4,02	3,50	3,03	2,46	1,96	1,49	1,04
70,0	30,0	5,86	5,42	4,96	4,52	4,00	3,58	3,16	2,69	2,27	1,78	1,38	0,89
75,0	25,0	5,13	4,76	4,36	3,97	3,56	3,18	2,77	2,40	1,95	1,61	1,18	0,83
80,0	20,0	4,48	4,12	3,78	3,47	3,12	2,77	2,38	2,08	1,76	1,35	1,05	0,69
85,0	15,0	3,80	3,56	3,24	2,94	2,69	2,38	2,08	1,78	1,46	1,19	0,91	0,60
90,0	10,0	3,16	2,89	2,64	2,43	2,20	1,95	1,71	1,44	1,24	0,96	0,72	0,53
95,0	5,0	2,48	2,33	2,11	1,91	1,75	1,56	1,35	1,17	0,92	0,78	0,54	0,40
100,0	0	1,80	1,65	1,54	1,43	1,28	1,12	1,01	0,87	0,73	0,54	0,44	0,25

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 9. Массовая доля жира в системе «10 % сливки – СЦМ – вода»

Table 9. Mass fraction of fat in 10% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	11,40	10,50	9,63	8,80	7,94	7,02	6,14	5,28	4,37	3,51	2,62	1,75
55,0	45,0	11,00	10,10	9,23	8,41	7,57	6,74	5,85	5,01	4,20	3,33	2,49	1,68
60,0	40,0	10,40	9,59	8,80	8,00	7,21	6,40	5,58	4,81	3,99	3,22	2,40	1,63
65,0	35,0	9,91	9,21	8,41	7,68	6,89	6,13	5,34	4,55	3,81	3,04	2,33	1,56
70,0	30,0	9,46	8,73	7,99	7,28	6,50	5,85	5,07	4,40	3,61	2,90	2,18	1,46
75,0	25,0	8,92	8,24	7,60	6,88	6,17	5,48	4,84	4,11	3,47	2,79	2,03	1,37
80,0	20,0	8,43	7,77	7,13	6,51	5,88	5,18	4,54	3,91	3,24	2,63	1,96	1,30
85,0	15,0	8,00	7,32	6,72	6,12	5,49	4,90	4,31	3,66	3,06	2,46	1,82	1,21
90,0	10,0	7,50	6,89	6,33	5,74	5,17	4,59	3,99	3,43	2,90	2,30	1,71	1,16
95,0	5,0	7,00	6,44	5,94	5,39	4,85	4,31	3,76	3,24	2,68	2,12	1,61	1,09
100,0	0	6,53	6,00	5,54	4,98	4,50	3,98	3,47	3,01	2,48	1,98	1,54	0,99

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 10. Массовая доля сухих веществ в системе «10 % сливки – СЦМ – вода»

Table 10. Mass fraction of solids in 10% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	38,31	35,32	32,44	29,43	26,54	23,61	20,77	17,75	14,83	11,78	8,84	5,86
55,0	45,0	35,65	32,93	30,20	27,48	24,63	21,98	19,20	16,41	13,75	10,93	8,19	5,48
60,0	40,0	33,00	30,49	27,95	25,45	22,92	20,37	17,74	15,29	12,79	10,11	7,62	5,05
65,0	35,0	30,42	28,08	25,77	23,37	21,01	18,71	16,36	14,04	11,71	9,29	6,96	4,67
70,0	30,0	27,71	25,69	23,42	21,32	19,29	17,05	14,79	12,82	10,74	8,51	6,36	4,25
75,0	25,0	25,09	23,16	21,22	19,31	17,34	15,40	13,56	11,64	9,62	7,74	5,74	3,83
80,0	20,0	22,42	20,74	18,98	17,34	15,58	13,84	12,13	10,31	8,60	6,92	5,17	3,43
85,0	15,0	19,85	18,21	16,71	15,22	13,78	12,11	10,63	9,12	7,62	6,03	4,55	3,03
90,0	10,0	17,14	15,72	14,40	13,20	11,80	10,52	9,18	7,91	6,53	5,28	3,95	2,64
95,0	5,0	14,51	13,42	12,20	11,14	9,94	8,83	7,75	6,62	5,53	4,42	3,30	2,22
100,0	0	11,83	10,91	9,94	9,09	8,15	7,26	6,34	5,44	4,53	3,65	2,69	1,78

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 11. pH в системе «10 % сливки – СЦМ – вода»

Table 11. pH in 10% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	6,19	6,2	6,24	6,27	6,32	6,35	6,43	6,47	6,54	6,62	6,73	6,88
55,0	45,0	6,23	6,26	6,28	6,31	6,36	6,39	6,46	6,54	6,58	6,68	6,78	6,90
60,0	40,0	6,24	6,28	6,31	6,36	6,39	6,43	6,48	6,56	6,62	6,70	6,81	6,93
65,0	35,0	6,29	6,32	6,39	6,39	6,46	6,49	6,53	6,61	6,66	6,73	6,86	6,96
70,0	30,0	6,36	6,38	6,44	6,46	6,49	6,54	6,61	6,66	6,71	6,80	6,89	7,01
75,0	25,0	6,41	6,46	6,48	6,52	6,55	6,58	6,65	6,70	6,75	6,83	6,93	7,05
80,0	20,0	6,46	6,50	6,52	6,56	6,60	6,65	6,71	6,76	6,83	6,89	6,97	7,05
85,0	15,0	6,55	6,56	6,60	6,62	6,67	6,73	6,77	6,80	6,88	6,93	7,03	7,11
90,0	10,0	6,64	6,67	6,69	6,74	6,77	6,82	6,86	6,89	6,93	6,99	7,09	7,14
95,0	5,0	6,73	6,76	6,82	6,82	6,86	6,89	6,93	6,97	7,05	7,10	7,15	7,20
100,0	0	6,92	6,95	6,94	6,99	7,02	7,06	7,07	7,09	7,13	7,17	7,24	7,29

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

доли жира до 6,44 %, чего не было получено только на молоке, пермеате и ретентате молочных.

В таблицах 12–15 представлены результаты аналогичного исследования системы с 35 % сливками.

Трехкомпонентные системы на основе 35 % сливок с высокими исходными значениями жирности характеризуются узким диапазоном допустимых значений массовых долей дистиллированной воды и СЦМ, при которых возможно применение иммунофлуоресцентного анализа для обнаружения остаточных количеств антибиотиков. В то же время на данном этапе исследования установлена возможность увеличения верхней границы допустимого интервала массовой доли сухих веществ до 13,51 %.

Поскольку значения pH и массовой доли белка не выходили за пределы установленных ранее диапазонов, незначительно увеличивалась только верхняя гра-

ница массовой доли сухих веществ, тогда как верхняя граница массовой доли жира значительно возрастала. С целью сокращения объемов исследования следующее выявление детализированных условий формирования трехкомпонентных систем на основе сливок проведено только в отношении массовой доли жира. Для 10 % сливок массовую долю дистиллированной воды в системе «смесь – вода» варьировали в диапазоне от 35,0 до 40,0 % с шагом 0,5 %, а массовую долю СЦМ в смеси – от 2 до 7 % с шагом 0,5 %. В случае с 35 % сливками массовую долю дистиллированной воды варьировали в пределах от 78,0 до 80,0 % с шагом 0,2 %, а массовую долю СЦМ в смеси – от 33,0 до 40,0 % с шагом 0,5 %. Результаты исследования представлены в таблицах 16 и 17.

Анализ данных показал, что даже в узком диапазоне изменений массовых долей дистиллированной воды

Таблица 12. Массовая доля белка в системе «35 % сливки – СЦМ – вода»

Table 12. Mass fraction of protein in 35% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	8,25	7,63	7,00	6,33	5,72	5,11	4,48	3,81	3,17	2,52	1,93	1,30
55,0	45,0	7,56	6,99	6,39	5,80	5,23	4,68	4,03	3,48	2,93	2,34	1,78	1,12
60,0	40,0	6,86	6,37	5,82	5,28	4,75	4,19	3,70	3,15	2,62	2,09	1,59	1,08
65,0	35,0	6,13	5,73	5,23	4,76	4,24	3,78	3,29	2,87	2,38	1,93	1,44	0,91
70,0	30,0	5,43	5,02	4,63	4,20	3,76	3,34	2,98	2,50	2,11	1,71	1,22	0,81
75,0	25,0	4,80	4,37	4,03	3,68	3,35	2,92	2,61	2,17	1,81	1,49	1,07	0,77
80,0	20,0	4,10	3,78	3,45	3,11	2,79	2,48	2,18	1,84	1,60	1,24	0,96	0,60
85,0	15,0	3,39	3,16	2,90	2,58	2,37	2,09	1,84	1,52	1,34	1,02	0,82	0,55
90,0	10,0	2,66	2,49	2,26	2,04	1,87	1,62	1,41	1,21	1,01	0,80	0,62	0,39
95,0	5,0	2,02	1,81	1,70	1,52	1,39	1,21	1,07	0,92	0,79	0,62	0,47	0,29
100,0	0	1,28	1,19	1,07	0,97	0,88	0,76	0,72	0,59	0,51	0,41	0,33	0,24

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 13. Массовая доля жира в системе «35 % сливки – СЦМ – вода»

Table 13. Mass fraction of fat in 35% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	19,50	18,06	16,52	15,03	13,49	11,98	10,52	9,03	7,54	6,05	4,48	3,03
55,0	45,0	19,84	18,32	16,81	15,26	13,78	12,19	10,70	9,19	7,62	6,10	4,61	3,04
60,0	40,0	20,19	18,63	17,09	15,52	13,98	12,43	10,90	9,33	7,80	6,21	4,67	3,11
65,0	35,0	20,52	18,96	17,35	15,73	14,21	12,59	11,05	9,44	7,87	6,31	4,76	3,19
70,0	30,0	20,78	19,22	17,63	16,05	14,41	12,85	11,20	9,57	8,00	6,43	4,81	3,20
75,0	25,0	21,15	19,52	17,86	16,28	14,65	13,04	11,36	9,73	8,15	6,49	4,89	3,26
80,0	20,0	21,46	19,79	18,19	16,48	14,87	13,22	11,56	9,90	8,27	6,60	4,97	3,29
85,0	15,0	21,81	20,10	18,42	16,79	15,09	13,38	11,74	10,08	8,38	6,67	5,03	3,32
90,0	10,0	22,07	20,44	18,72	16,98	15,32	13,61	11,94	10,23	8,48	6,82	5,09	3,40
95,0	5,0	22,44	20,68	18,95	17,29	15,51	13,80	12,07	10,38	8,66	6,88	5,18	3,42
100,0	0	22,71	21,03	19,25	17,52	15,75	14,00	12,25	10,49	8,71	6,97	5,25	3,51

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 14. Массовая доля сухих веществ в системе «35 % сливки – СЦМ – вода»

Table 14. Mass fraction of solids in 35% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	45,79	42,26	38,72	35,17	31,70	28,16	24,65	21,16	17,59	14,05	10,57	7,06
55,0	45,0	43,83	40,51	37,12	33,71	30,38	26,98	23,60	20,27	16,87	13,51	10,09	6,73
60,0	40,0	41,97	38,74	35,52	32,30	29,03	25,82	22,63	19,40	16,17	12,90	9,72	6,42
65,0	35,0	40,03	36,95	33,87	30,78	27,74	24,66	21,59	18,52	15,43	12,33	9,27	6,15
70,0	30,0	38,13	35,24	32,25	29,32	26,40	23,51	20,52	17,60	14,65	11,77	8,80	5,84
75,0	25,0	36,23	33,44	30,69	27,87	25,07	22,33	19,51	16,72	13,95	11,14	8,40	5,60
80,0	20,0	34,39	31,72	29,05	26,44	23,75	21,17	18,49	15,86	13,22	10,55	7,94	5,30
85,0	15,0	32,48	29,99	27,45	24,99	22,49	19,93	17,50	14,95	12,46	9,96	7,45	5,00
90,0	10,0	30,53	28,23	25,82	23,46	21,15	18,81	16,47	14,08	11,79	9,42	7,03	4,71
95,0	5,0	28,66	26,45	24,25	22,05	19,87	17,66	15,44	13,25	11,00	8,84	6,62	4,44
100,0	0	26,78	24,72	22,65	20,56	18,49	16,46	14,41	12,35	10,30	8,23	6,17	4,14

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 15. Значение pH в системе «35 % сливки – СЦМ – вода»

Table 15. pH in 35% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)											
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	40,0	45,0	50,0	55,0	60,0	65,0	70,0	75,0	80,0	85,0	90,0
50,0	50,0	6,14	6,21	6,22	6,25	6,30	6,34	6,41	6,47	6,54	6,63	6,71	6,87
55,0	45,0	6,19	6,25	6,26	6,29	6,33	6,39	6,46	6,49	6,58	6,64	6,74	6,87
60,0	40,0	6,24	6,27	6,31	6,34	6,37	6,43	6,47	6,53	6,61	6,69	6,80	6,93
65,0	35,0	6,28	6,32	6,36	6,39	6,43	6,48	6,51	6,59	6,62	6,72	6,82	6,96
70,0	30,0	6,30	6,34	6,37	6,42	6,45	6,52	6,53	6,61	6,67	6,75	6,84	6,96
75,0	25,0	6,36	6,38	6,43	6,46	6,49	6,55	6,60	6,64	6,72	6,79	6,88	7,00
80,0	20,0	6,41	6,44	6,49	6,54	6,55	6,59	6,64	6,69	6,77	6,83	6,93	7,04
85,0	15,0	6,48	6,52	6,54	6,56	6,60	6,68	6,70	6,75	6,84	6,89	6,95	7,09
90,0	10,0	6,55	6,60	6,62	6,65	6,67	6,72	6,78	6,81	6,89	6,97	7,03	7,11
95,0	5,0	6,64	6,65	6,69	6,71	6,75	6,79	6,85	6,88	6,94	6,99	7,06	7,15
100,0	0	6,76	6,79	6,79	6,83	6,86	6,91	6,93	6,99	7,05	7,10	7,14	7,23

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 16. Детализированная массовая доля жира в системе «10 % сливки – СЦМ – вода»

Table 16. Specified mass fraction of protein in 10% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)										
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	35,0	35,5	36,0	36,5	37,0	37,5	38,0	38,5	39,0	39,5	40,0
93,0	7,0	7,16	7,11	7,05	7,06	6,96	6,88	6,87	6,79	6,71	6,69	6,67
93,5	6,5	7,12	7,05	7,04	7,00	6,94	6,84	6,84	6,79	6,72	6,64	6,55
94,0	6,0	7,09	7,04	6,98	6,93	6,87	6,82	6,79	6,71	6,64	6,58	6,56
94,5	5,5	7,03	6,98	6,90	6,84	6,84	6,75	6,71	6,70	6,65	6,53	6,50
95,0	5,0	7,02	6,97	6,85	6,85	6,75	6,69	6,64	6,60	6,58	6,48	6,46
95,5	4,5	6,93	6,89	6,80	6,75	6,74	6,68	6,64	6,60	6,52	6,48	6,38
96,0	4,0	6,93	6,88	6,82	6,70	6,66	6,66	6,58	6,48	6,45	6,45	6,36
96,5	3,5	6,82	6,78	6,73	6,72	6,66	6,56	6,56	6,48	6,40	6,40	6,31
97,0	3,0	6,78	6,71	6,69	6,67	6,56	6,54	6,47	6,39	6,41	6,29	6,23
97,5	2,5	6,73	6,70	6,67	6,55	6,57	6,50	6,42	6,41	6,36	6,31	6,20
98,0	2,0	6,69	6,63	6,60	6,51	6,48	6,45	6,38	6,32	6,29	6,24	6,17

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

Таблица 17. Детализированная массовая доля жира в системе «35 % сливки – СЦМ – вода»

Table 17. Specified mass fraction of fat in 10% cream – whole milk powder – water

Смесь		Дистиллированная вода, % (м/м)										
Сливки, % (м/м)	СЦМ, % (м/м)	78,0	78,2	78,4	78,6	78,8	79,0	79,2	79,4	79,6	79,8	80,0
60,0	40,00	6,81	6,76	6,69	6,62	6,62	6,52	6,42	6,41	6,35	6,30	6,19
60,5	39,5	6,81	6,81	6,75	6,68	6,58	6,50	6,43	6,43	6,35	6,28	6,23
61,0	39,0	6,85	6,81	6,69	6,70	6,61	6,52	6,49	6,42	6,32	6,26	6,22
61,5	38,5	6,87	6,80	6,71	6,66	6,64	6,52	6,47	6,43	6,35	6,30	6,22
62,0	38,0	6,87	6,81	6,73	6,68	6,62	6,58	6,50	6,41	6,39	6,32	6,24
62,5	37,5	6,90	6,82	6,75	6,69	6,63	6,60	6,52	6,47	6,35	6,31	6,26
63,0	37,0	6,87	6,84	6,80	6,70	6,63	6,56	6,52	6,48	6,38	6,32	6,27
63,5	36,5	6,91	6,81	6,77	6,70	6,68	6,56	6,50	6,49	6,42	6,38	6,30
64,0	36,0	6,92	6,86	6,80	6,73	6,70	6,56	6,51	6,47	6,37	6,34	6,25
64,5	35,5	6,95	6,85	6,80	6,77	6,68	6,63	6,55	6,51	6,42	6,38	6,31
65,0	35,0	6,95	6,84	6,82	6,74	6,68	6,62	6,53	6,50	6,43	6,35	6,34
65,5	34,5	6,92	6,92	6,79	6,74	6,71	6,61	6,58	6,52	6,46	6,36	6,33
66,0	34,0	6,92	6,91	6,80	6,73	6,70	6,63	6,56	6,50	6,43	6,39	6,33
66,5	33,5	6,98	6,88	6,88	6,75	6,69	6,62	6,59	6,53	6,43	6,44	6,31
67,0	33,0	6,99	6,92	6,83	6,82	6,70	6,67	6,60	6,53	6,44	6,39	6,32

Примечание: Жирным шрифтом отмечены варианты с положительным приборным откликом.

Note: Positive instrument responses are in bold.

и СЦМ в трехкомпонентной системе на основе сливок, при уменьшении шага дискретизации, существует фундаментальная область соотношения компонентов. В этой области границы диапазонов, в которых достигается адекватный отклик, пересекаются. Предположительно, для получения адекватного приборного отклика иммунофлуоресцентного метода на наличие остаточных антибиотиков в трехкомпонентной смеси необходимо, чтобы степень разбавления исходных сливок дистиллированной водой и СЦМ превышала

определенный минимум. Также результаты исследования показали, что верхняя граница допустимого интервала массовых долей жира может быть увеличена до 6,80 %.

Для определения обобщенных границ допустимых интервалов варьирования ключевых факторов использованы результаты исследования статистической вариативности состава и рН пермеата и ретената молочных, а также условие отсутствия ложноотрицательного приборного отклика (табл. 5, 7), поскольку в каждом

случае существовала вероятность отклонения экспериментальных значений от теоретических. Поэтому в качестве меры оценки в данном случае применяли плотность нормального распределения, а границы интервалов предварительно оценивались как значения массовой доли ключевого показателя, для которых вероятность попадания в эти границы составляла 95 %, охватывая все статистически возможные значения (рис. 1–4).

В результате проведенной оценки установлено, что предложенный подход являлся исчерпывающим для определения интервалов допустимого варьирования рН и массовой доли белка в образцах после пробоподготовки. В этом случае весь диапазон значений данных ключевых факторов разбивался строго на три области: 1 и 3 – ложноотрицательного отклика и 2 – адекватного отклика. Наложение интервалов, определенных для пахты и восстановленного молока, тре-

бует уменьшения нижней границы интервала. Это приводило к разделению диапазона как минимум на четыре области, причем адекватный отклик наблюдался как минимум в двух смежных областях – 2 и 3 (рис. 2, 3). Исследование молока, восстановленного из СЦМ, а также трехкомпонентных образцов на основе сливок позволили установить существование допустимого участка интервала выше верхней границы, определенной на основании статистического анализа пермеата и ретентата молочных (рис. 2, область 4). Такое усложнение общей картины указывало на степень комплексности влияния массовой доли сухих веществ на протекание реакции взаимодействия антитела с антигеном при иммунофлуоресцентном анализе. Проведенный анализ совокупности полученных результатов показал справедливость начального предположения об интегральном характере влияния ключевых показателей на приборный отклик.

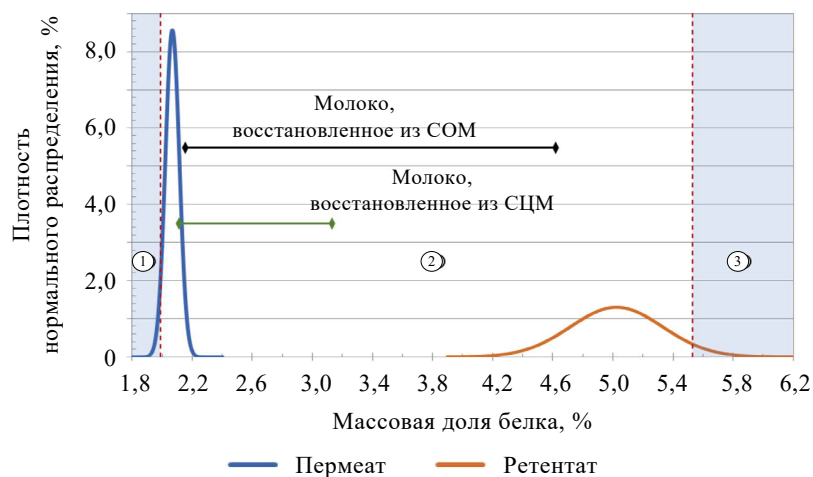


Рисунок 1. Плотность нормального распределения массовой доли белка в исследованных образцах

Figure 1. Density of normal distribution of protein mass fraction

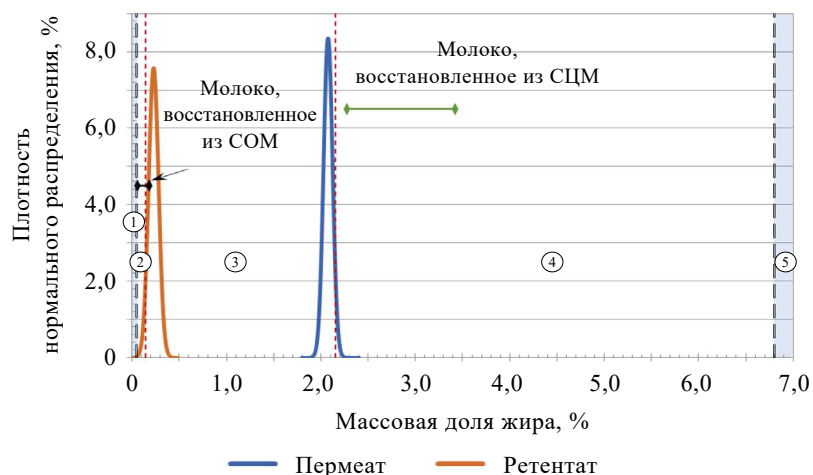


Рисунок 2. Плотность нормального распределения массовой доли жира в исследованных образцах

Figure 2. Density of normal distribution of fat mass fraction

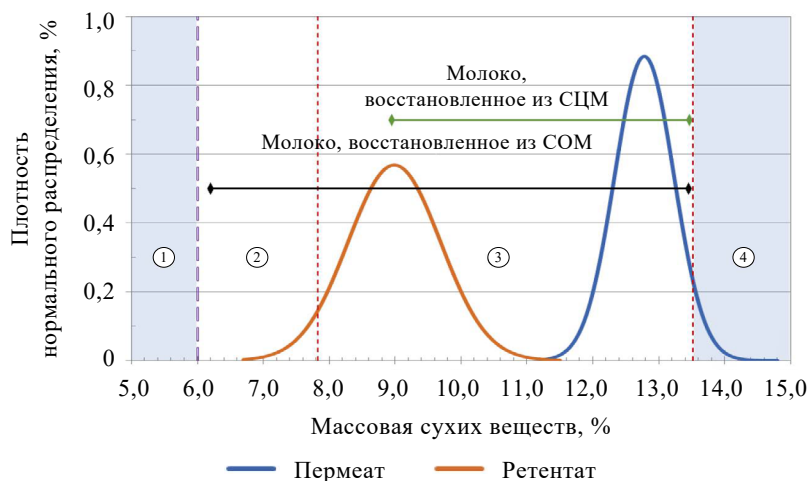


Рисунок 3. Плотность нормального распределения массовой доли сухих веществ в исследованных образцах

Figure 3. Density of normal distribution of solids mass fraction

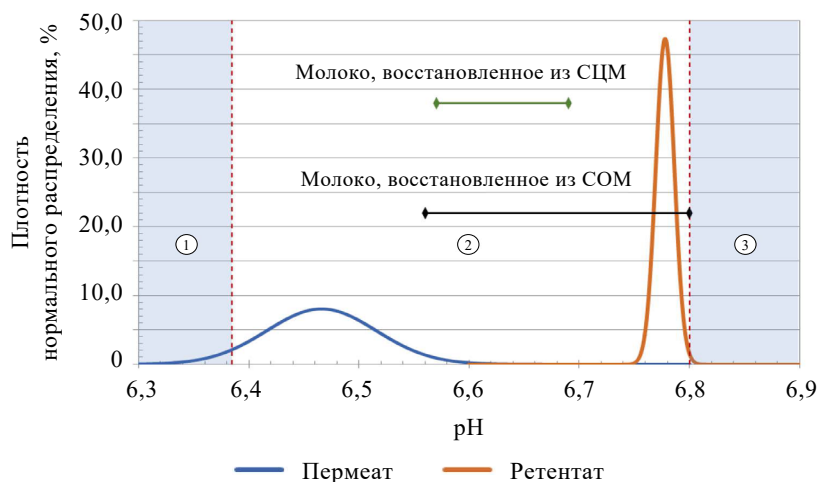


Рисунок 4. Плотность нормального распределения pH в исследованных образцах

Figure 4. Density of normal distribution of pH

Итоговые интервалы значений ключевых показателей, полученные в результате проведенного исследования: белок – 2,00–5,53 %, жир – 0,05–6,80 %, сухие вещества – 6,00–13,00 %, pH – 6,38–6,80. Выход за пределы интервала хотя бы одного из показателей были приняты как ложноотрицательный отклик.

Таким образом, допустимое множество всех возможных сочетаний значений ключевых показателей формируют собой область, ограниченную гиперкубом А в четырехмерном гиперпространстве Б с размерностями из значений показателей. Искрывающая проекция области гиперпространства Б, содержащей область гиперкуба А, на трехмерное пространство представлена на рисунке 5. Условием гарантии адекватного приборного отклика на наличие антибиотиков в исследуемых образцах являлось обеспечение попадания геометрического места точки, определяемого значениями ключевых факторов образца, в область занимаемую

гиперкубом А. Анализ соответствия этому условию выполнен по алгоритму, представленному на рисунке 6.

Несмотря на полную однозначность алгоритма и экспериментально подтвержденную применимость иммунофлуоресцентного метода для выявления остаточных антибиотиков в различных молочных продуктах (сырое и восстановленное цельное и обезжиренное молоко, пахта, пермеат и ретентат молочные, а также сливки), необходимо формализовать подход к пробоподготовке и получению образцов для анализа. В соответствии с полученными результатами можно утверждать, что в пермеате и ретентате молочных, а также СЦМ и СОМ в процессе пробоподготовки целесообразно готовить двухкомпонентные образцы, где пермеат молочный корректируется СЦМ, а остальные продукты – дистиллированной водой. Для анализа сливок процесс пробоподготовки должен быть двухэтапным: на первом этапе происходит введение

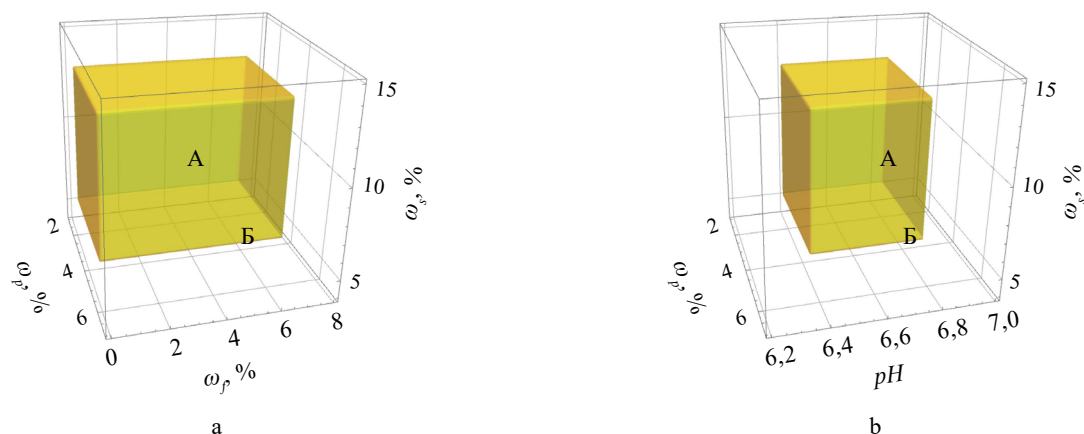


Рисунок 5. Область факторного пространства положительного отклика биоанализатора на присутствие антибиотиков (проекция а и б исчерпывающе дополняют друг друга)

Figure 5. Factor space of positive response to antibiotics: projections a and b complement each other

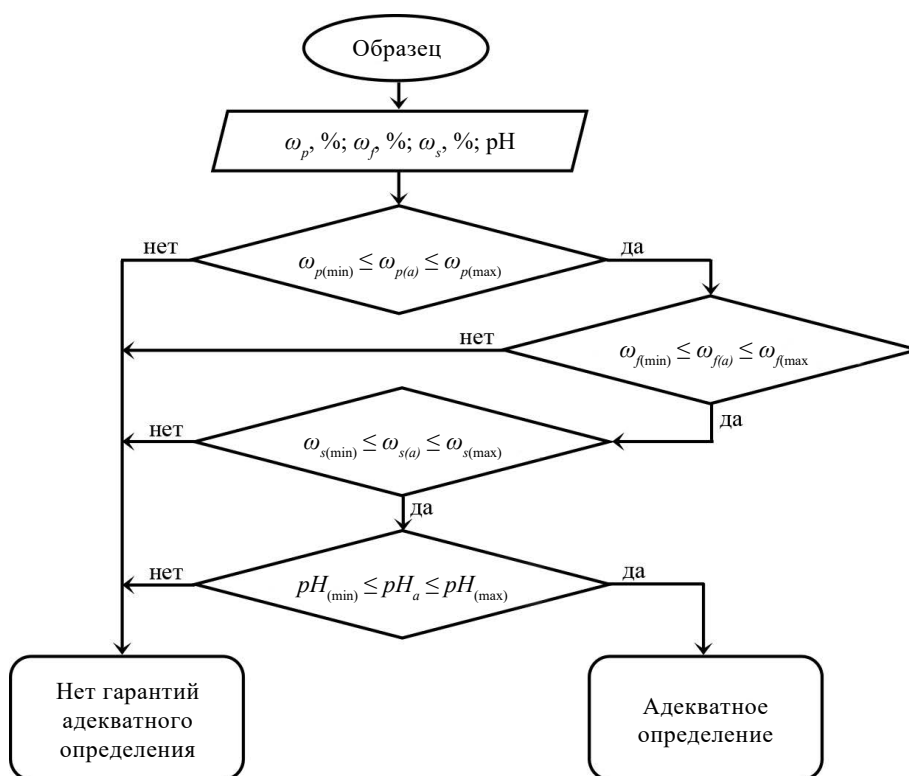


Рисунок 6. Алгоритм применимости образцов для выявления остаточных количеств антибиотиков иммунофлуоресцентным методом

Figure 6. Algorithm for detecting residual antibiotics by immunofluorescence

в сливки СЦМ, а на втором – разбавление полученной смеси дистиллированной водой.

Разработан алгоритм для анализа эффективности применения метода в объектах исследования, в рамках которого определены ключевые параметры и методики расчета, что позволило точно оценить целостность образцов. Вычислены фундаментальные интегральные пределы, характеризующие распределение компонен-

тов в системе, что предоставляло объективную оценку воздействия различных веществ на конечный результат анализа. Установлены верхняя и нижняя границы интервалов для распределения показателей, что обеспечивало корректность выделения и анализа смеси, например, водной фазы. Результаты демонстрируют высокую точность и надежность метода при определении количественных параметров в экспериментальных образцах,

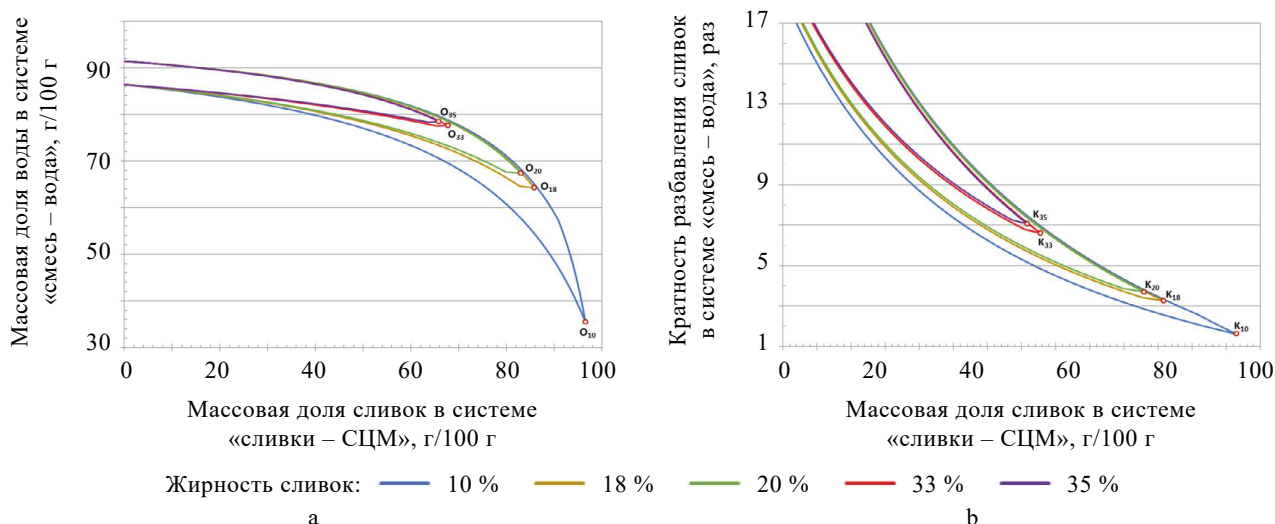


Рисунок 7. Области определения допустимых массовой доли дистиллированной воды (а) и степени разбавления (б) при пробоподготовке образцов сливок для выявления остаточных количеств антибиотиков иммунофлуоресцентным методом

Figure 7. Permissible mass fraction for distilled water (a) and dilution degree (b) in cream: ranges for detecting residual antibiotics by immunofluorescence

что подтверждалось сопоставлением с теоретическими значениями, подчеркивая его успешную адаптацию для практического использования в исследованиях, требующих высокой точности анализа сложных систем.

Рассчитанные границы и фундаментальные интегральные пределы разбавления и массовой доли дистиллированной воды для сливок жирностью 10, 18, 20, 33 и 35 % представлены на рисунке 7.

Анализ результатов расчетов показал, что следствием увеличения массовой доли жира в сливках являлось уменьшение допустимой области варьирования массовой доли дистиллированной воды для пробоподготовки образцов. При этом области, соответствующие более жирным сливкам, находились внутри областей, соответствующих сливкам с меньшим процентом жирности. Следствием этого являлась формальная возможность определения массовой доли, добавляемой к системе «сливки – СЦМ» дистиллированной воды, универсальной для сливок любой жирности. Необходимо учитывать, что увеличение добавляемой воды неизбежно приводило к увеличению степени разбавления, область допустимых значений которой также уменьшается с увеличением жирности сливок, демонстрируя аналогичный с массовой долей воды характер вложенности. В этой связи для нахождения оптимального соотношения компонентов для пробоподготовки образца на основе сливок необходимо в пределах области допустимых значений массовой доли дистиллированной воды (ω_w) для сливок с заданной жирностью выбрать значение массовой доли сливок в смеси «сливки – СЦМ» таким образом, чтобы ему соответствовал некоторый интервал в области значений ω_w , после чего на этом интервале следует выбрать прием-

лемое значение ω_w . При этом релевантная ему степень разбавления должна быть по возможности минимальной. Далее на основании выбранных значений ω_c и ω_w следовало, что для формирования смеси «сливки – СЦМ» к ω_c частям сливок необходимо прибавить $100 - \omega_c$ частей СЦМ, после чего к $100 - \omega_w$ частям смеси прибавить ω_w частей дистиллированной воды.

Рассмотренный подход автоматически обеспечит соответствие значений в образцах сливок после пробоподготовки рабочим интервалам ключевых показателей для корректной работы иммунофлуоресцентного метода.

Выводы

На основе проведенного комплексного исследования были получены значимые научные и практические результаты в области адаптации иммунофлуоресцентного метода определения антибиотиков для широкого спектра молочных продуктов. Исследование позволило оценить возможности мониторинга содержания антибиотиков в различных объектах с применением иммунохимического биоанализатора в пределах диапазона его характеристик. Ключевым достижением работы являлась разработка способа расчетного определения величины pH в образцах сухого цельного и сухого обезжиренного молока, что позволило прогнозировать оптимальные условия пробоподготовки. Данный подход существенно повышает эффективность и точность анализа. Экспериментальные данные продемонстрировали снижение концентрации целевых аналитов в образцах ретентата молочного, пермеата молочного и сливок при их разбавлении дополнительными компонентами. Это важное наблюдение указывало на то, что фактическая аналитическая чувствительность измерительного

оборудования может быть ниже заявленных метрологических характеристик, что необходимо учитывать при проведении анализов и интерпретации результатов.

Одно из главных достижений исследования – разработка многоэтапного эмпирического подхода к определению адекватных интервалов значений основных факторов (рН, массовые доли белка, жира и сухих веществ в образцах), позволяющих гарантировать отсутствие ложноотрицательных или ложноположительных откликов на наличие или отсутствие остаточных количеств ветеринарных препаратов. Данный подход предполагает одновременный учет значений факторов, что повышает точность и достоверность результатов.

В ходе исследования создан и экспериментально подтвержден универсальный алгоритм применимости иммунофлуоресцентного анализа для разных видов молочных продуктов, который может быть успешно адаптирован для определения остаточных количеств антибиотиков в различных молочных продуктах и продуктах их переработки, включая молоко, пахту, пермеат молочный, ретентат молочный и сливки.

Полученные результаты имеют важное практическое значение для молочной промышленности. Внедре-

ние предложенных методик и подходов позволит повысить стандарты безопасности молочных продуктов, что критически важно для здоровья потребителей и укрепления доверия к отрасли. Представленные научные достижения создают надежную методологическую основу для дальнейших исследований в области аналитического контроля качества молочной продукции.

Критерии авторства

Все авторы внесли эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The authors contributed equally to this research and bear equal responsibility for any potential cases of plagiarism.

Conflict of interest

The authors state that there is no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Blasco C, Picó Y, Torres CM. Progress in analysis of residual antibacterials in food. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2007;26(9):895–913. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.08.001>
2. Durso LM, Cook KL. Impacts of antibiotic use in agriculture: What are the benefits and risks? *Current Opinion in Microbiology*. 2014;19:37–44. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.05.019>
3. Beyene T. Veterinary drug residues in food-animal products: Its risk factors and potential effects on public health. *Journal of Veterinary Science & Technology*. 2016;7(1):7. <https://doi.org/10.4172/2157-7579.1000285>
4. Liang G, Song L, Gao Y, Wu K, Guo R, *et al.* Aptamer sensors for the detection of antibiotic residues – A mini-review. *Toxics*. 2023;11(6):513. <https://doi.org/10.3390/toxics11060513>
5. Liu Y, Luo Y, Li W, Xu X, Wang B, *et al.* Current analytical strategies for the determination of quinolone residues in milk. *Food Chemistry*. 2024;430:137072. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137072>
6. Mottier P, Parisod V, Gremaud E, Guy PA, Stadler RH. Determination of the antibiotic chloramphenicol in meat and seafood products by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2003;994(1–2):75–84. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(03\)00484-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(03)00484-9)
7. Lavrukina OI, Amelin VG, Kish LK, Tretyakov AV, Pen'kov TD. Determination of residual amounts of antibiotics in environmental samples and food products. *Journal of Analytical Chemistry*. 2022;77(11):1349–1385. <https://elibrary.ru/WAEUOR>
8. Tao X, Zhou S, Yuan X, Li H. Determination of chloramphenicol in milk by ten chemiluminescent immunoassays: Influence of assay format applied. *Analytical Methods*. 2016;8:4445–4451. <https://doi.org/10.1039/C6AY00792A>
9. Xu F, Ren K, Yang YZ, Guo JP, Ma GP, *et al.* Immunoassay of chemical contaminants in milk: A review. *Journal of Integrative Agriculture*. 2015;14(11):2282–2295. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61121-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61121-2)
10. Свириденко Г. М. Проблемы организации системного контроля антибиотиков в молоке и молочных продуктах. *Молочная промышленность*. 2020. № 8. С. 8–12. [Sviridenko GM. Problems of organizing systemic control of antibiotics in milk and dairy products. *Dairy Industry*. 2020;(8):8–12. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/JWUGYE>
11. Coons AH, Creech HJ, Jones RN, Berliner E. The demonstration of pneumococcal antigen in tissues by the use of fluorescent antibody. *The Journal of Immunology*. 1942;45(3):159–170. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.45.3.159>
12. Coons AH, Kaplan MH. Localization of antigen in tissue cells. II. Improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. *Journal of Experimental Medicine*. 1950;91(1):1–13. <https://doi.org/10.1084/jem.91.1.1>
13. Morgan CL, Newman DJ, Price CP. Immunosensors: Technology and opportunities in laboratory medicine. *Clinical Chemistry*. 1996;42(2):193–209. <https://doi.org/10.1093/clinchem/42.2.193>
14. Yin X, Liu S, Kukkar D, Wang J, *et al.* Performance enhancement of the lateral flow immunoassay by use of composite nanoparticles as signal labels. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2024;170:117441. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117441>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2589>
<https://elibrary.ru/EJHNSC>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Оценка протеолитической активности применяемых в сыроделии лактобацилл



Н. П. Сорокина*^{ORCID}, О. В. Лепилкина^{ORCID},
А. А. Бруцкая^{ORCID}, Е. В. Топникова^{ORCID}

Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия^{ORCID}, Углич, Россия

Поступила в редакцию: 14.05.2025
Принята после рецензирования: 17.06.2025
Принята к публикации: 01.07.2025

*Н. П. Сорокина: n.sorokina@fnscps.ru,
<http://orcid.org/0000-0002-1108-3695>
О. В. Лепилкина: <https://orcid.org/0000-0002-2375-3959>
А. А. Бруцкая: <http://orcid.org/0009-0005-4070-8227>
Е. В. Топникова: <http://orcid.org/0000-0003-0225-6870>

© Н. П. Сорокина, О. В. Лепилкина, А. А. Бруцкая,
Е. В. Топникова, 2025



Аннотация.

Увеличение производства сыров разных видов в России выявило необходимость использования дополнительных моновидовых заквасок разнонаправленного действия. Это определило актуальность расширения ассортимента дополнительных заквасок с заданными свойствами за счет создания новых моновидовых концентратов. Среди них особую роль играют культуры с высокой протеолитической активностью, способствующие интенсификации протеолиза, сокращению продолжительности созревания и улучшению органолептических показателей сыров. Цель работы – выявление штаммов мезофильных лактобацилл из коллекции микроорганизмов Всероссийского научно-исследовательского института маслоделия и сыроделия (г. Углич, Россия) с высокой протеолитической активностью, перспективных для использования в сыроделии.

Исследовали штаммы лактобацилл *Lactiplantibacillus plantarum* 28 и 37, *Lacticaseibacillus casei* 738-11, *Lacticaseibacillus paracasei* K-6, *Lacticaseibacillus rhamnosus* П, *Limosilactobacillus fermentum* 39. Протеолитическую активность оценивали по количеству накапливаемого небелкового азота и буферной емкости водорастворимой фракции сыров.

По результатам культивирования в обезжиренном молоке отобраны два штамма с наибольшей протеолитической активностью: *L. rhamnosus* П и *L. paracasei* K-6, которые использовали в качестве дополнительных культур к основной производственной закваске при выработке сыров. Во время выработки и прессования сыров быстрее накапливалась биомасса *L. rhamnosus* П, а при созревании – *L. paracasei* K-6. Максимальное количество жизнеспособных клеток лактобацилл достигло 8,55 lg КОЕ/г в сырах с *L. rhamnosus* П и 8,94 lg КОЕ/г – с *L. paracasei* K-6. Отмечено более медленное вымирание *L. rhamnosus* П, а также их стимулирующее действие на развитие лактококков. Высокое содержание лактобацилл в сырах (более 10⁸ КОЕ/г) позволяет отнести их к пробиотическим молочным продуктам. В сырах с добавлением *L. paracasei* K-6 и *L. rhamnosus* П отмечалась тенденция к более активному протеолизу: в конце созревания прирост количества небелкового азота составил ~ 20 % относительно контрольных сыров без лактобацилл. При положительном влиянии обоих штаммов на органолептику сыров наиболее высокую оценку за вкус и запах получили сыры с культурой *L. paracasei* K-6, что согласуется с наибольшим изменением буферной емкости водорастворимой фракции этих сыров.

Рекомендовано использовать штаммы *L. paracasei* K-6 и *L. rhamnosus* П в составе моновидовых заквасок для повышения качества сыров и интенсификации производства.

Ключевые слова. Сыроделие, закваски, лактобациллы, протеолитическая активность, созревание, органолептические показатели

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по приоритетным направлениям научно-технологического развития (проект № 075-15-2024-483).

Для цитирования: Сорокина Н. П., Лепилкина О. В., Бруцкая А. Л., Топникова Е. В. Оценка протеолитической активности применяемых в сыроделии лактобацилл. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 540–551. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2589>

Evaluating the Proteolytic Activity of Lactobacilli in Cheese Production



Ninel P. Sorokina*, Olga V. Lepilkina, Anastasiya L. Brutsкая, Elena V. Topnikova

All-Russian Scientific Research Institute of Butter and Cheesemaking, Uglich, Russia

Received: 14.05.2025

Revised: 17.06.2025

Accepted: 01.07.2025

*Ninel P. Sorokina: n.sorokina@fncps.ru,

<http://orcid.org/0000-0002-1108-3695>

Olga V. Lepilkina: <http://orcid.org/0000-0002-2375-3959>

Anastasiya L. Brutsкая: <http://orcid.org/0009-0005-4070-8227>

Elena V. Topnikova: <http://orcid.org/0000-0003-0225-6870>

© N.P. Sorokina, O.V. Lepilkina, A.L. Brutsкая, E.V. Topnikova, 2025



Abstract.

As the range of domestic cheeses has increased, Russian cheese industry needs new monospecific starters with multidirectional or targeted actions. Advanced monospecific concentrates with strong proteolytic properties boost proteolysis, reduce ripening time, and improve the sensory profile of the finished product. This article describes some strains of mesophilic lactobacilli with good prospects for commercial cheese production.

The lactobacilli strains were isolated from the collection of microorganisms of the All-Russian Scientific Research Institute of Butter and Cheese Production, Uglich, Russia. They included *Lactiplantibacillus plantarum* 28 and 37, *Lacticaseibacillus casei* 738-11, *Lacticaseibacillus paracasei* K-6, *Lacticaseibacillus rhamnosus* P, and *Limosilactobacillus fermentum* 39. The proteolytic profile was estimated by the amount of accumulated non-protein nitrogen and the buffer capacity of the water-soluble fraction. The skim-milk cultivation revealed two optimal strains with the highest proteolytic effect, i.e., *L. rhamnosus* P and *L. paracasei* K-6. They served as additional cultures to the main industrial starter.

L. rhamnosus P accumulated biomass faster during processing and pressing; *L. paracasei* K-6 developed more intensively during ripening. The highest count of viable lactobacilli cells reached 8.55 lg CFU/g in the cheese samples with *L. rhamnosus* P and 8.94 lg CFU/g in the samples with *L. paracasei* K-6. *L. rhamnosus* P died slower and demonstrated a stimulating effect on lactococci. The high content of lactobacilli in the experimental cheeses ($\geq 10^8$ CFU/g) made it possible to classify them as dairy probiotics. The samples with *L. paracasei* K-6 and *L. rhamnosus* P proved to be more active proteolytics. By the end of ripening, the experimental samples contained 20% more non-protein nitrogen than the control. The cheeses fortified with *L. paracasei* K-6 received the highest score for taste and aroma, which correlated with the greatest change in the buffer capacity of the water-soluble fraction.

L. paracasei K-6 and *L. rhamnosus* P in monospecific starters proved able to improve the quality of cheese and intensify its production.

Keywords. Cheese production, starters, lactobacilli, proteolytic activity, ripening, sensory properties

Funding. The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as a major research project in a priority R&D area (grant No. 075-15-2024-483).

For citation: Sorokina NP, Lepilkina OV, Brutsкая AL, Topnikova EV. Evaluating the Proteolytic Activity of Lactobacilli in Cheese Production. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):540–551. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2589>

Введение

Производство пищевых продуктов, основанное на использовании молочнокислых микроорганизмов, неразрывно связано с разработкой новых биотехнологических подходов к производству заквасок. Это предусматривает выделение, изучение и использование новых производственно-ценных штаммов заквасочных культур и микробных консорциумов со специфическими биологическими и оптимизированными

технологическими свойствами. Правильный выбор заквасочных культур и характеристика каждого штамма являются наиболее важными факторами для получения продуктов с воспроизводимыми органолептическими и структурными свойствами [1].

Молочнокислые бактерии играют многогранную и разнообразную роль в процессе изготовления сыра. Они участвуют в метаболизме лактозы и цитратов, а также продуцируют липолитические и протеоли-

тические ферменты, воздействующие на молочный жир и белки. Помимо основной функции – выработки молочной кислоты, которая подавляет рост нежелательных микроорганизмов, эти бактерии способствуют созреванию сыра. Их ферменты участвуют в протеолизе, липолизе и преобразовании аминокислот в соединения, непосредственно влияющие на вкус и аромат конечного продукта. Кроме того, заквасочные культуры способствуют созданию устойчивой среды в сыре с точки зрения окислительно-восстановительного потенциала при заданном уровне соли и влаги, что обеспечивает необходимую активность сычужного фермента и рост вторичной микрофлоры [1, 2].

Многие молочнокислые бактерии в настоящее время признаны пробиотиками, т. к. играют важную роль в поддержании нормального функционирования кишечника и стимулировании иммунной системы человека. Чаще всего они принадлежат к родам *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* [1].

При изготовлении сыров заквасочные микроорганизмы применяются в виде поливидовых многоштаммовых заквасок и монокультур. Закваски в виде монокультур используются в основном как вспомогательные культуры с целью ускорения процесса созревания и получения желаемого вкуса [1]. Наиболее важными культурами, входящими в состав заквасок для сыроделия, являются молочнокислые бактерии родов *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Leuconostoc*. В США и странах Евросоюза наряду с ними используются представители родов *Pediococcus* и *Oenococcus* [1, 2].

На стадии созревания сыров доминирует протеолиз, который является одной из наиболее сложных ферментативных реакций, происходящих в ферментированных молочных продуктах. Молочнокислые бактерии обладают очень сложной системой протеиназы / пептидазы, которая состоит из трех компонентов: протеиназы, пептидазы и специфических транспортных белков [3–5]. Протеиназы, связанные с клеточной стенкой, инициируют первичный протеолиз вместе с сычужным ферментом – деградацию казеина до высокомолекулярных пептидов, которые подвергаются дальнейшему расщеплению внутриклеточными пептидазами до низкомолекулярных пептидов и аминокислот – вторичному протеолизу. Транспортные системы лактобактерий осуществляют перенос аминокислот и пептидов через клеточную стенку и цитоплазматическую мембрану. На пептидазный транспорт оказывает влияние активная кислотность среды, концентрация растворенного кислорода, наличие в среде пептидов и аминокислот. Механизмы поддержания уровня регуляторных белков или их удаления через клеточный протеолиз определяют органолептические свойства готового продукта [5, 6].

Таким образом, если в первичном протеолизе главная роль принадлежит сычужному ферменту, а молочнокислым бактериям отводится вспомогательная роль, то во вторичном протеолизе ведущая роль отводится

молочнокислым бактериям, которые составляют основную часть микробиома любого вида сыра.

На ранних стадиях созревания сыров в протеолитических процессах участвуют главным образом лактококки, в частности *Lactococcus lactis* и *Lactococcus cremoris*, являющиеся основными заквасочными культурами. Они содержат множество внутриклеточных пептидаз (амидопептидазы, дипептидазы, трипептидазы), гидролизующих образованные вне клетки пептиды на аминокислоты [6]. Лактококки начинают процесс деградации казеина, но их ферментативная способность довольно ограничена и уменьшается по мере созревания сыра. В связи с этим лактококки придают сыру начальные вкусовые характеристики [7]. Для получения высококачественных сыров с выраженным сырным вкусом и ароматом обычно требуется привлечение дополнительных ферментов (протеаз и липаз) или микроорганизмов других видов.

Лактобациллы обладают более высокой протеолитической активностью по сравнению с лактококками. Протеиназы лактобацилл способны метаболизировать широкий спектр казеинов, особенно α_{s1} -, β - и κ -казеин. Внутриклеточные пептидазы молочнокислых палочек продолжают процесс протеолиза, который начали лактококки, и активно участвуют в расщеплении казеина на мелкие пептиды и аминокислоты, влияющие на вкусовой букет и консистенцию зрелого сыра [8, 9]. Протеиназы клеточной стенки лактобацилл являются ключевыми ферментами в их протеолитической системе. Мезофильные и термофильные виды лактобацилл играют важную роль на поздних стадиях созревания сыра и ответственны за более глубокий протеолиз [10]. Их ферментативная активность способствует созданию более сложных вкусов, особенно в твердых сырах [6].

В большинстве сыров, изготовленных как из сырого, так и из пастеризованного молока, обнаруживаются молочнокислые палочки не заквасочного происхождения [11, 12]. Это так называемые автохтонные микроорганизмы молока-сырья, выдерживающие используемую при производстве сыров кратковременную пастеризацию при 72–76 °C в течение 20–25 с [13]. Клетки лактобацилл инактивируются, но в процессе выработки сыров восстанавливаются. Поскольку максимальная температура роста мезофильных палочек составляет 40–45 °C, их развитие после второго нагревания до температуры не выше 42 °C не только не тормозится, но может и продолжаться. Температурный диапазон роста мезофильных лактобацилл в целом составляет от 8 до 45 °C [14], поэтому они способны развиваться как в процессе выработки, так и при созревании сыров.

Концентрация клеток молочнокислых палочек в сырах переменна и зависит от многих факторов: наличия термостойких культур в сыром молоке, санитарно-гигиенического состояния на молочных фермах и на сыродельных заводах [15]. Видовой и штаммовый диапазон автохтонных бактерий, попадающих

в сыр, и оказываемое ими влияние на качество сыров нестабильны и непредсказуемы. Производимый ими эффект может быть как положительным, так и отрицательным. Например, высокая протеолитическая активность автохтонной микрофлоры приводит к быстрому созреванию сыра, но может негативно сказаться на его текстуре, делая продукт слишком мягким или ломким.

Во многих странах растет интерес к автохтонной микрофлоре традиционных оригинальных сыров из сырого молока. Это связано со стремлением повысить стабильность качества и безопасности сыров при сохранении их индивидуальности и узнаваемости. Такие сыры можно считать национальным достоянием. Положительное влияние на качество и безопасность сыров автохтонных молочнокислых палочек, отобранных по технологически значимым свойствам (в том числе по протеолитической активности), доказано в различных исследованиях [16–18]. Во всех случаях отмечается углубление и интенсификация протеолиза при использовании автохтонных лактобацилл как дополнительных культур.

Так, использование автохтонных штаммов лактококка, термофильного стрептококка в качестве основной закваски и молочнокислой палочки *Lactobacillus rhamnosus* BT68 в качестве дополнительной культуры при производстве итальянского традиционного горного сыра Mountain cheese привело к ускорению молочнокислого процесса, снижению содержания энтеробактерий и улучшению общей органолептической оценки продукта по сравнению с контрольным сыром без этих бактерий [18].

Добавление автохтонных мезофильных молочнокислых палочек *Lacticaseibacillus casei* и *Lactiplantibacillus plantarum*, выделенных из традиционного итальянского сыра Pecorino Crotonese из сырого молока и отобранных по ферментативной активности, положительно повлияло на содержание свободных аминокислот и общее качество сыра по сравнению с контрольным вариантом. Концентрация клеток добавленных культур лактобацилл в сырах в течение 120 дней созревания варьировалась на уровне от 7,55 до 7,94 log КОЕ/г [16].

В результате изучения технологических характеристик местных культур молочнокислых бактерий, выделенных из итальянских и бразильских сыров, выявлена высокая активность аминопептидаз N и X у штаммов *L. lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* и *L. rhamnosus*. Nicosia *et al.* заключили, что это свойство лактобацилл может улучшить вкус сыров и, возможно, снизить количество горьких пептидов, которые образуются в результате действия молокосвертывающих ферментов при первичном протеолизе [17].

В Российской Федерации сыры изготавливают из пастеризованного молока, но и они могут быть хорошим источником для выделения производственных штаммов молочнокислых палочек. В этом случае естественному отбору под влиянием технологических факторов и условий в пищевой матрице,

таких как pH, температура, активность воды, подвергаются не заквасочные лактобациллы.

Выделение автохтонных бактерий из сыров высокого качества и изучение их свойств для понимания возможности использования в составе заквасок является признанной практикой микробиологии сыроделия. В коллекции микроорганизмов Экспериментальной биофабрики Всероссийского научно-исследовательского института маслоделия и сыроделия (ВНИИМС) в настоящее время имеется 42 автохтонные культуры мезофильных молочнокислых палочек, выделенных ранее из высококачественных сыров, изготовленных из сырого и пастеризованного молока без использования молочнокислых палочек заквасочной микрофлоры. Но только 5 из них нашли применение в составе моновидовых дополнительных заквасок молочнокислых палочек: 2 штамма *L. plantarum* и 3 штамма *L. casei*. Эти же виды лактобацилл включены в состав некоторых поливидовых заквасок для сыров. В качестве дополнительной закваски культуры для подавления развития маслянокислых бактерий рекомендуется использовать *L. plantarum*, *L. casei* – для интенсификации созревания полутвердых сыров, а также при изготовлении рассольных сыров.

За счет зарубежных поставок видовой спектр дополнительных культур лактобацилл для российского сыроделия значительно увеличился [19, 20]. Это говорит о востребованности при производстве сыров дополнительных моновидовых культур разнонаправленного действия.

Из-за острой необходимости перехода на использование в пищевой промышленности ингредиентов российского производства и резкого роста производства сыров разных видов, выпускаемых в РФ [21] актуально расширение ассортимента российских дополнительных заквасок с заданными свойствами за счет создания новых моновидовых концентратов.

Цель исследования – выявить штаммы мезофильных молочнокислых палочек из коллекции микроорганизмов ВНИИМС, обладающих высокой протеолитической активностью, с потенциалом использования в составе моновидовых концентратов, целенаправленно влияющих на протеолитические процессы при созревании сыров для повышения их качества и интенсификации производства.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являются культуры мезофильных молочнокислых палочек из коллекции Экспериментальной биофабрики Всероссийского научно-исследовательского института маслоделия и сыроделия (ВНИИМС): *Lactiplantibacillus plantarum* штаммы 28 и 37, *Lacticaseibacillus casei* штамм 738-11, *Lacticaseibacillus paracasei* штамм K-6, *Lacticaseibacillus rhamnosus* штамм П, *Limosilactobacillus fermentum* штамм 39. Культуры лактобацилл были выделены ранее из сыров высокого качества, изготовленных из сырого

или пастеризованного молока без использования бактериальных заквасок с молочнокислыми палочками.

Биохимическую активность и сравнительную идентификацию культур мезофильных лактобацилл осуществляли с использованием тест-системы типа API-50CHL (bioMérieux, Франция) в соответствии с инструкцией к тест-системе с использованием доступа к электронной интернет-базе данных APIWEB для интерпретации результатов, полученных на стрипах API (bioMérieux, Франция).

Подготовку молочнокислых палочек к исследованию проводили в стерильном обезжиренном молоке в течение 24 ± 1 ч при температуре 37 ± 1 °C. Протеолитическую активность указанных культур оценивали по количеству растворимых небелковых азотистых веществ, образующихся в результате протеолиза белков восстановленного обезжиренного молока. Для этого сухое обезжиренное молоко восстанавливали дистиллированной водой с расчетом получения 10 % сухих веществ и стерилизовали при температуре 121 ± 1 °C с выдержкой в течение 10 мин. В подготовленное молоко вносили по 1 % 24-часовой культуры молочнокислых палочек, культивировали при температуре 37 ± 1 °C в течение 24 ± 1 ч, затем выдерживали в течение 30 суток при температуре 11 ± 1 °C, соответствующей температурным условиям созревания полутвердых сыров.

Количество растворимых небелковых азотистых веществ определяли сразу после культивирования при температуре 37 ± 1 °C (0 суток), через 15 и 30 суток выдержки при температуре 11 ± 1 °C. В пробы сквашенного молока вносили трихлоруксусную кислоту концентрацией 5 % для осаждения всех белков, разделяли смеси на осадок и надосадочную фракцию центрифугированием при 5000 об/мин. В надосадочной фракции определяли массовую долю небелкового азота методом Кьельдаля. Для дальнейших исследований отбирали культуры, в результате действия которых образовалось наибольшее количество небелковых азотистых соединений, что являлось признаком наибольшей протеолитической активности.

Эффективность действия отобранных штаммов молочнокислых палочек проверяли на сырах, изготовленных в экспериментально-технологическом цехе ВНИИМС по технологической схеме производства полутвердого сыра Российский с низкой температурой второго нагревания, формуемого насыпью, с массовой долей жира в сухом веществе 50 %. Выработки проводили из коровьего молока-сырья хозяйств Ярославской области (ООО «АгриВолга», Россия). Молоко контролировали как по общим критериям качества, так и по специфическим критериям сыропригодности стандартизованными методами (титруемая кислотность, плотность, группа чистоты, массовая доля жира, массовая доля белка, количество спор мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий, КМАФАнМ, количество соматических клеток, ингибирующие ве-

щества, сычужная проба). Пастеризацию молока проводили при температуре 73 ± 1 °C с выдержкой в течение 20–25 с. Посолку отпрессованных сыров проводили в рассоле. Созревание сыров проходило при температуре 11 ± 1 °C в течение 60 суток.

При изготовлении контрольных сыров использовали основную производственную закваску (из концентрированной поливидовой закваски БК-Углич-№4, ВНИИМС, г. Углич), имеющей в составе *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*. При производстве опытных сыров, кроме основной поливидовой закваски БК-Углич-№4, дополнительно вносили культуры молочнокислых палочек, отобранные по признаку высокой протеолитической активности. Доза основной закваски составляла 0,8 %, дополнительных культур – 0,1 %.

На этом этапе объектами исследования были нормализованная молочная смесь для выработки сыра и изготовленные из нее контрольные и опытные сыры в процессе созревания в течение 60 суток. В нормализованной смеси определяли массовую долю жира кислотным методом по ГОСТ 5867-2023 «Молоко и молочные продукты. Методы определения жира».

В процессе созревания через каждые 15 суток в сырах определяли:

- количество жизнеспособных клеток лактококков посевом на агар с гидролизированным молоком и молочнокислых палочек – посевом на подкисленную среду MRS согласно ГОСТ 33951-2016 «Молоко и молочные продукты. Методы определения молочнокислых микроорганизмов»;
- массовую долю небелкового азота методом Кьельдаля по аттестованной методике измерений (ФР.1.31.2022.42669);
- буферную емкость водорастворимой фракции сыров по аттестованной методике измерений (ФР.1.31.2023.47248).

Органолептическую оценку сыров проводили в возрасте 45 и 60 суток по ГОСТ 33630-2015 «Сыры и сыры плавленые. Методы контроля органолептических показателей» комиссией, состоящей из пяти человек с квалификацией «отобранный эксперт-дегустатор».

Исследования проводили в трехкратной повторности. Для визуализации и статистической обработки результатов использовали программу «Microsoft Excel 2010». Для оценки статистически значимых различий между исследуемыми вариантами применяли однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Для проведения парного сравнения выборок использовали апостериорные критерии Тьюки. Статистически значимый результат оценивали при $p \leq 0,05$.

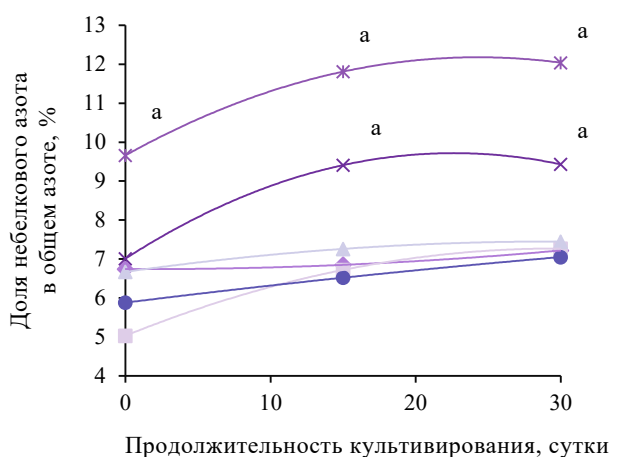
Результаты и их обсуждение

Исследование по оценке биохимической активности лактобацилл показало, что все штаммы способны сбраживать глюкозу, галактозу, лактозу, мальтозу,

фруктозу, трегалозу, рибозу, маннит, сорбит, салицин. И только штамм *Lacticaseibacillus rhamnosus* П ферментировал рамнозу. Результаты идентификации лактобацилл, полученные из электронной интернет-базы данных APIWEB для интерпретации результатов исследований биохимической активности, подтвердили видовую принадлежность культур с индексом достоверности 99,7 % штамма *Lacticaseibacillus paracasei* К-6 и 99,9 % всех остальных культур.

Результаты исследования изменения количества растворимого небелкового азота (в % к общему азоту) в восстановленном обезжиренном молоке при культивировании в нем исследуемых культур мезофильных молочнокислых палочек представлены на рисунке 1.

Полученные результаты свидетельствуют о различной протеолитической активности исследованных штаммов лактобацилл. Различия наблюдаются сразу по окончании культивирования при оптимальной температуре в течение 24 ± 1 ч (0 суток). Наиболее активное накопление небелкового азота в этот период произошло в пробе молока с культурой *L. rhamnosus* П. К началу выдержки при 11 ± 1 °С доля небелкового азота в общем азоте была высокой (9,5 %) и продолжала активно увеличиваться в течение следующих 15 суток:



а – данные, имеющие существенные различия ($p < 0,05$)

- ◆ *Lacticaseibacillus plantarum* 28
- *Lacticaseibacillus plantarum* 37
- ▲ *Lacticaseibacillus casei* 738-11
- × *Lacticaseibacillus paracasei* К-6
- ✱ *Lacticaseibacillus rhamnosus* П
- *Limosilactobacillus fermentum* 39

Рисунок 1. Изменение количества растворимого небелкового азота в обезжиренном молоке при культивировании лактобацилл (зависимости построены по средним значениям, отклонения от среднего составляют 5–10 отн.%)

Figure 1. Amounts of soluble non-protein nitrogen in skim milk during lactobacilli cultivation: mean values, 5–10% deviation

прирост составил 2,5 %. В промежутке выдержки от 15 до 30 суток накопление растворимого небелкового азота проходило очень медленно, оставшись на уровне 12 %.

В пробе молока с культурой *L. paracasei* К-6 произошла некоторая задержка в накоплении небелкового азота на первой стадии культивирования при температуре 37 °С. К началу выдержки при 11 ± 1 °С этот показатель находился на уровне 7 % и через 30 суток увеличился до 9,5 % с таким же характером изменения, как и у штамма *L. rhamnosus* П.

Культуры *Lactiplantibacillus plantarum* 28 и *Lacticaseibacillus casei* 738-11 при таком же стартовом количестве небелкового азота, как и у штамма *L. paracasei* К-6 (~ 7 %), показали очень низкую протеолитическую активность после 30 суточной выдержки при температуре 11 ± 1 °С, продемонстрировав этим сильную зависимость от температурных условий культивирования. За 30 суток при температуре культивирования 11 ± 1 °С прирост доли небелкового азота в общем азоте в пробах молока с этими штаммами составил менее 1 %.

В пробах молока со штаммами *Lactiplantibacillus plantarum* 37 и *Limosilactobacillus fermentum* 39 при стартовых значениях небелкового азота в диапазоне от 5 до 6 % при выдержке в тех же условиях количество небелкового азота в общем азоте увеличилось всего на 1–2 %.

Исследованные штаммы мезофильных молочнокислых палочек обладали разной протеолитической активностью как в процессе их культивирования при оптимальной температуре 37 ± 1 °С, так и при температуре, соответствующей температурным условиям созревания полутвердых сыров – 11 ± 1 °С. Наибольшую протеолитическую активность проявили культуры *L. rhamnosus* П и *L. paracasei* К-6, которые были отобраны для дальнейших исследований в качестве дополнительных культур при выработке сыров.

Высокая протеолитическая активность культур *L. rhamnosus* и *L. paracasei* выявлена и другими исследователями [17, 22]. Однако данные об уровне протеолитической активности молочнокислых палочек в публикациях различных авторов существенно различаются, что объясняется использованием различных методов при проведении исследований и свидетельствует о штаммовом характере этого свойства. Так, при изучении 137 культур молочнокислых бактерий, выделенных из различных ферментированных молочных продуктов, американские ученые выявили наличие протеолитической активности у 61,3 % исследованных штаммов. Но высокая протеолитическая активность была установлена только у 7 штаммов: одного штамма *L. casei*, двух штаммов *L. paracasei*, двух штаммов *L. plantarum* и двух культур педиококков [23].

Отобранные штаммы (*L. rhamnosus* П и К-6) использовали в качестве дополнительных культур к основной производственной закваске, изготовленной из БК-Углич-№4, с целью установления их влияния

на процесс созревания и органолептические показатели формируемых насыпью сыров с низкой температурой второго нагревания.

Исследование по оценке влияния лактобацилл на процесс созревания сыров. При развитии в процессе выработки и созревания сыров сложных консорциумов микроорганизмов взаимоотношения между различными видами и штаммами имеют разный характер – симбиотический, антагонистический, индифферентный. В экосистеме, которую представляет собой сыр, микроорганизмы могут взаимодействовать напрямую посредством физического контакта, кворумного сенсора, симбиоза, паразитизма, хищничества и ингибирования [24].

Положительные взаимодействия между ассоциированными микроорганизмами имеют решающее значение для достижения улучшенных процессов ферментации и преобразования субстрата при производстве ферментированных продуктов питания [25]. Однако взаимодействия в совместных культурах молочнокислых бактерий изучены мало, за исключением хорошо охарактеризованной совместной культуры, используемой для производства йогурта. Вместе с тем известно, что молочнокислые бактерии являются многофункциональными микроорганизмами, которые демонстрируют значительный потенциал для создания положительных взаимодействий между собой [26]. Напротив, возникновение антагонистического взаимодействия между компонентами закваски может негативно отразиться на качестве и безопасности сыров. В связи с этим было исследовано развитие лактококков, обеспечивающих необходимый уровень молочнокислого брожения, и лактобацилл в процессе выработки и созревания сыров из нормализованной молочной смеси, полученной путем нормализации молока-сырья обезжиренным молоком до соотношения жир:белок и ее пастеризации при принятых в сыроделии режимах.

Исходное молоко-сырье характеризовалось следующими показателями: титруемая кислотность – 16,0–17,0 °Т; плотность – 1028,8–1029,3 кг/м³; группа чистоты 1 класса; массовая доля жира – 4,24–4,35 %; массовая доля белка – 3,21–3,27 %; количество спор мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий – 2,5–6,0 НВЧ спор/см³; КМАФАнМ – $2,3 \times 10^4$ – $8,4 \times 10^4$ КОЕ/см³; количество соматических клеток – 357–395 тыс. клет./см³; ингибирующие вещества отсутствовали; сычужная проба 1 класса.

Наблюдения за процессом свертывания нормализованных смесей для изготовления контрольных и опытных образцов сыров не выявили значимых различий по продолжительности процесса, характеристикам плотности сгустка, внешнему виду и физико-химическим показателям образуемой при его разрезании сыворотки, а также уровню pH сыров после прессы.

На рисунке 2 представлена динамика развития жизнеспособных клеток лактококков в процессе выработки и созревания сыров.

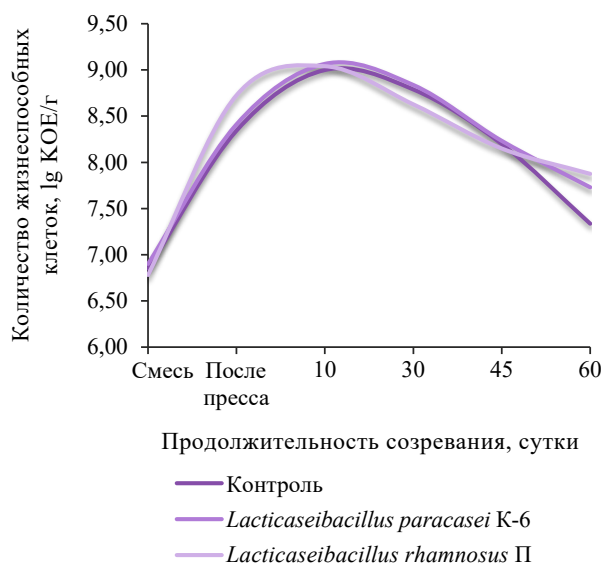


Рисунок 2. Динамика развития лактококков в сырах (зависимости построены по средним значениям, отклонения от среднего составляют 5–10 отн.%)

Figure 2. Lactococci development in cheeses: mean values, 5–10% deviation

В сырах, изготовленных с дополнительной культурой *L. rhamnosus* П, после прессы количество жизнеспособных клеток лактококков было в 2,4 раза больше, чем в контрольном варианте, изготовленном с закваской из БК-Углич-№4 без внесения дополнительных культур.

Это может быть следствием стимулирующего воздействия молочнокислых палочек *L. rhamnosus* П на размножение лактококков в процессе выработки и пресования сыров. Возможно, что это обусловлено более высокой протеолитической активностью, обнаруженной у данного штамма при его развитии в молоке, поскольку известно о наличии сложных питательных потребностей у культур лактококков. Молочным лактококкам, в отличие от растительных, для роста требуется несколько аминокислот: изолейцин, лейцин, валин, гистидин, а иногда аргинин, метионин, пролин и / или глутамин [27], которые они должны получать в свободном виде из молока. Свободных аминокислот и других форм азотистых соединений в молоке недостаточно, поэтому расщепление белков протеолитическими ферментами культуры *L. rhamnosus* П при их совместном развитии могло привести к удовлетворению этих потребностей и стимулированию их размножения.

Максимальное содержание лактококков отмечено во всех вариантах в 10–15 суточном возрасте: от 460 млн КОЕ/г ($\lg = 8,66$) до 1175 млн КОЕ/г ($\lg = 9,07$). Выявлена более высокая интенсивность вымирания лактококков в контрольном сыре после 45 суток созревания, в результате чего концентрация их клеток в 60 суточном возрасте была ниже на 0,52 лг КОЕ/г по сравнению с опытными сырами,

выработанными с дополнительными культурами молочнокислых палочек.

На рисунке 3 представлены результаты развития лактобацилл в опытных сырах с дополнительными культурами. В контрольном сыре без внесения дополнительных культур посевом на среду МРС контролировали рост молочнокислых палочек не заквасочного происхождения. В смеси для выработки сыра их исходное количество составило от 13 до 20 КОЕ/г. На протяжении всего периода созревания количество этих микроорганизмов увеличилось на 2 порядка и не превысило 5×10^3 КОЕ/г (данные на рис. 3 не представлены).

Исследованные культуры молочнокислых палочек развивались в сырах с разной интенсивностью. В процессе выработки и прессования быстрее накапливалась бактериальная масса штамма *L. rhamnosus* П, количество жизнеспособных клеток которого к концу прессования увеличилось в 6 раз, а количество клеток штамма *L. paracasei* К-6 – только в 2,3 раза.

За первые 10 суток созревания сыров характер развития палочек изменился: штамм *L. rhamnosus* П размножался медленнее – число его клеток возросло на 1,61 lg КОЕ/г, в то время как содержание клеток *L. paracasei* К-6 увеличилось на 2,24 lg КОЕ/г. Таким образом, концентрация жизнеспособных клеток *L. paracasei* К-6 в 10 суточном сыре превысила содержание клеток штамма *L. rhamnosus* П на 0,32 lg КОЕ/г. После 45 суток созревания в сырах обоих вариантов начиналось медленное вымирание молочнокислых палочек, при этом штамм *L. paracasei* К-6 вымирал более интенсивно. Число его клеток снизилось на 0,50 lg КОЕ/г за последующие 15 суток созревания,

а количество клеток штамма *L. rhamnosus* П уменьшилось незначительно – всего на 0,013 lg КОЕ/г.

Польскими исследователями установлена несколько более высокая интенсивность вымирания лактобацилл при изготовлении полутвердого сыра Эдам с культурами *Lactobacillus acidophilus* NCFM и *Lactobacillus rhamnosus* HN001. Согласно их данным, максимальное количество клеток молочнокислых палочек достигло 8,3 lg КОЕ/г, а к концу созревания снизилось примерно на 1 lg КОЕ/г и составило ~ 7,0 lg КОЕ/г [28]. Это количество клеток лактобацилл ниже, чем в исследованных нами сырах на 1 порядок.

Высокое содержание жизнеспособных клеток лактобацилл видов *L. paracasei* и *L. rhamnosus* в зрелом сыре свидетельствует о том, что сыр может служить довольно надежным источником пробиотических лактобацилл, поскольку они относятся к широко используемым видам пробиотических молочнокислых бактерий наряду с *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri* [29]. При этом нормативное содержание молочнокислых бактерий в пробиотических молочных продуктах должно составлять не менее 10^7 КОЕ/г, в экспериментальных сырах оно превышает 10^8 КОЕ/г. Употребление 20 г сыра может обеспечить поступление в организм более 1 млрд полезных бактерий. Следовательно, несомненный интерес представляет изучение пробиотических свойств исследованных, а также других коллекционных штаммов молочнокислых палочек для улучшения органолептических показателей сыров с одновременным повышением их пробиотических свойств.

Протеазы мезофильных молочнокислых бактерий в основном активны в отношении пептидов, уже присутствующих в сыре в больших количествах в результате начального протеолиза казеина, вызванного молокосвертывающим ферментом [30]. В связи с этим оценку протеолитической активности лактобактерий целесообразно проводить по количеству образующихся растворимых низкомолекулярных продуктов протеолиза. Особое значение при этом имеют небелковые азотистые вещества, присутствие которых свидетельствует о глубине и, следовательно, активности протеолиза в сыре.

На рисунке 4 представлено изменение количества небелковых азотистых веществ при созревании контрольного сыра, изготовленного только с основной закваской, и опытных сыров с добавленными к основной закваске культурами *L. paracasei* К-6 и *L. rhamnosus* П.

На протяжении всего исследованного периода созревания сыров всех вариантов количество небелковых азотистых веществ увеличивалось: в первые 30 суток – наиболее интенсивно, затем – с замедлением. После 30 суток созревания наметилась явная тенденция к более активному протеолизу в сырах с добавлением культур *L. paracasei* К-6 и *L. rhamnosus* П по сравнению с контрольным сыром. В конце созревания эта разница увеличилась еще более значительно.

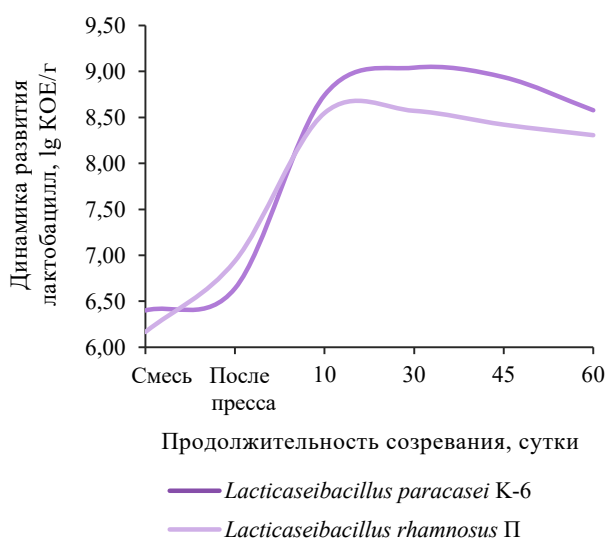


Рисунок 3. Динамика развития лактобацилл в сырах (зависимости построены по средним значениям, отклонения от среднего составляют 5–10 отн.%)

Figure 3. Lactobacilli development in cheeses: mean values, 5–10% deviation

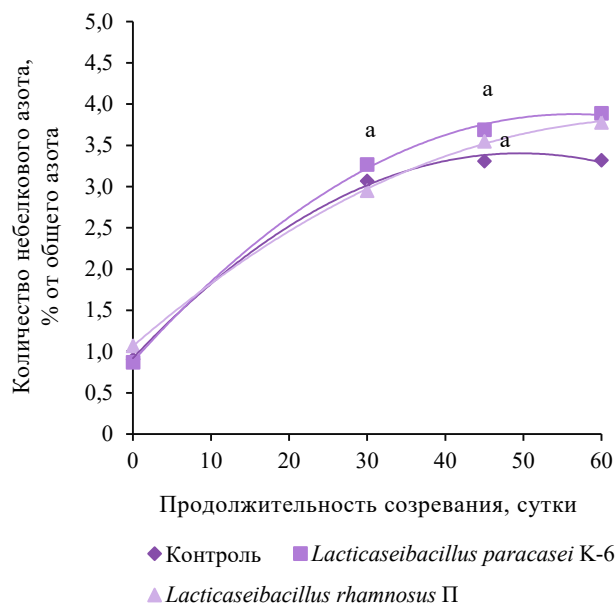


Рисунок 4. Изменение количества небелковых азотистых соединений в сырах (зависимости построены по средним значениям, отклонения от среднего составляют 5–10 отн.%), а – данные, имеющие существенные различия с контрольными образцами сыра ($p < 0,05$)

Figure 4. Amounts of non-protein nitrogen compounds in cheeses: mean values, 5–10% deviation

При созревании сыров изменялась буферная емкость водорастворимой фракции. Этот показатель также используется для оценки процесса созревания сыра. Но в отличие от количества растворимого небелкового азота, которое связано только с протеолизом, буферная емкость водорастворимой фракции характеризует накопление комплекса веществ, образующихся при созревании сыра не только в результате протеолиза, но и в результате появления других кислых соединений. Помимо растворимых белков и небелковых азотистых соединений, она обусловлена присутствием в сыре различных органических кислот, в основном молочной кислоты и ее солей, а также гидрофосфатов, цитратов, карбонатов, диоксида углерода и других химических соединений. В совокупности с растворимыми азотистыми соединениями эти вещества составляют буферную систему, сохраняющую определенную величину pH как при добавлении небольшого количества щелочи, так и при разведении. Таким образом, величина буферной емкости характеризует процесс созревания сыра по совокупности образующихся веществ. Вещества, переходящие в водорастворимую форму при созревании сыра, играют важную роль в формировании его органолептических характеристик.

На рисунке 5 показано изменение буферной емкости сыров, изготовленных с дополнительными культурами *L. rhamnosus* П и *L. paracasei* К-6, в сравнении

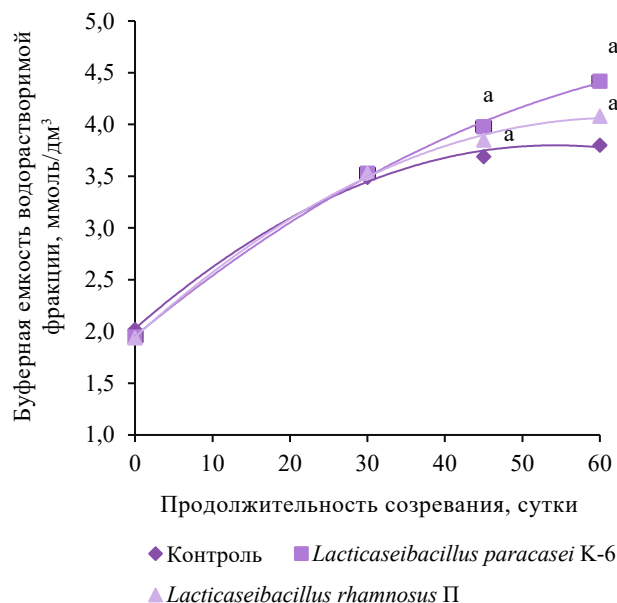


Рисунок 5. Изменение буферной емкости водорастворимой фракции сыров (зависимости построены по средним значениям, отклонения от среднего составляют 5–10 отн.%), а – данные, имеющие существенные различия с контрольными образцами сыра ($p < 0,05$)

Figure 5. Buffer capacities of water-soluble fraction in cheeses: mean values, 5–10% deviation

с контролем – сыром, который изготовили с использованием основной закваски.

Полученные данные повторяют тенденцию изменения количества небелковых азотистых соединений, обозначенную на рисунке 4. Буферная емкость водорастворимой фракции всех исследованных вариантов сыров увеличивалась по мере их созревания. В течение первых 30 суток различий между контрольным и опытными сырами практически не наблюдалось. В последующий период созревания наименьшие изменения величины буферной емкости произошли в контрольном сыре, наибольшие – в сыре с дополнительной культурой *L. paracasei* К-6. Сыры с дополнительной культурой *L. rhamnosus* П к концу созревания по величине буферной емкости заняли промежуточное положение между контролем и сыром с *L. paracasei* К-6.

Полученные результаты согласуются с результатами органолептической оценки вкуса и запаха сыров, представленными в таблице. В соответствии с ними самую высокую оценку за вкус и запах в 60 суточном возрасте (стадия кондиционной зрелости) получили сыры, изготовленные с дополнительной культурой *L. paracasei* К-6. По сравнению с контролем и сырами с *L. rhamnosus* П на фоне их выраженного сырного вкуса и аромата экспертами отмечены яркие сливочные ноты и гармоничный букет.

Таблица. Характеристика вкуса и запаха сыров

Table. Sensory evaluation of cheeses: taste and aroma

Вариант	45 суток созревания		60 суток созревания	
	Характеристика	Балл	Характеристика	Балл
Контроль	Выраженный сырный вкус, но слабый аромат, кисловатый	39,0 ± 0	Выраженный сырный вкус и аромат, кисловатый	40,0 ± 0,7
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> К-6	Выраженный сырный вкус и аромат, кисловатый (сливочные ноты, гармоничный букет)	39,5 ± 0,3	Выраженный сырный вкус (яркие сливочные ноты, гармоничный букет)	42,0 ± 0,7
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> П	Выраженный сырный вкус и аромат (сливочные ноты)	40,5 ± 0,3	Выраженный сырный вкус и аромат, кисловатый (сливочные ноты)	41,3 ± 0,4

Органолептическая оценка сыров подтвердила положительное влияние мезофильных лактобацилл *L. paracasei* К-6 и *L. rhamnosus* П на вкус и аромат сыров при добавлении их к основной закваске. Оно отмечалось уже через 45 суток созревания (за несколько дней до стадии кондиционного зрелости, которая составляет 60 суток). Если в контрольном сыре в это время был отмечен слабый сырный аромат, то в опытных сырах он был уже хорошо выражен. Во вкусе опытных сыров дегустаторами были отмечены выраженные сливочные ноты, которые в контрольном сыре не были зафиксированы и в стадии кондиционной зрелости. Кроме того, эксперты единогласно подчеркнули долгое приятное послевкусие при дегустационной оценке опытных сыров. Достоверных различий в консистенции, рисунке и цвете сыров установлено не было.

Выводы

Проведенные исследования показали штаммовый характер протеолитической активности исследованных коллекционных культур мезофильных лактобацилл. При культивировании в молоке при оптимальной температуре 37 ± 1 °C и при температуре, соответствующей условиям созревания полутвердых сыров – 11 ± 1 °C, из шести исследованных культур лактобацилл наибольшую протеолитическую активность проявили штаммы *Lacticaseibacillus rhamnosus* П и *Lacticaseibacillus paracasei* К-6.

В сырах, изготовленных с внесением *L. rhamnosus* П и *L. paracasei* К-6 в качестве дополнительных культур к основной закваске БК-Углич-№4, состоящей из лактококков и лейконостокков, прирост количества небелкового азота к концу созревания составил ~20 % относительно этого показателя в контрольных сырах без дополнительных культур.

Во время выработки и прессования сыров быстрее накапливалась биомасса штамма *L. rhamnosus* П, а при последующем созревании более интенсивно развивалась культура *L. paracasei* К-6. Максимальная концентрация жизнеспособных клеток достигла 8,55 lg КОЕ/г в сырах с *L. rhamnosus* П и 8,94 lg КОЕ/г – с *L. paracasei* К-6. Отмечено более медленное вымирание культуры *L. rhamnosus* П, а также ее стимулирующее действие на развитие лактококков при изготовлении сыров.

Высокое содержание молочнокислых бактерий в экспериментальных сырах (более 10^8 КОЕ/г) позволяет отнести их к полезным для здоровья пробиотическим молочным продуктам, т. к. оно существенно превышает установленную норму (не менее 10^7 КОЕ/г).

Исследованные дополнительные культуры лактобацилл имели положительное влияние на вкус и аромат сыров. Наиболее высокую оценку за вкус и запах получили сыры с дополнительной культурой *L. paracasei* К-6, что согласуется с наибольшим изменением величины буферной емкости водорастворимой фракции этих сыров.

Полученные результаты позволяют рекомендовать использование штаммов мезофильных молочнокислых палочек *L. paracasei* К-6 и *L. rhamnosus* П в составе моновидовых дополнительных заквасок, целенаправленно влияющих на протеолитические процессы при созревании сыров, для повышения их качества и интенсификации производства.

Перспективным направлением продолжения исследований является изучение пробиотических свойств штаммов *L. paracasei* К-6 и *L. rhamnosus* П и других коллекционных культур молочнокислых палочек для использования в сыроделии с целью улучшения качества и повышения пробиотических свойств сыров.

Критерии авторства

Н. П. Сорокина – организация и руководство проведением исследования, анализ литературы и результатов экспериментов, написание статьи; О. В. Лепилкина – анализ литературы и результатов экспериментов, написание статьи; А. Л. Бруцкая – проведение экспериментов, обработка результатов; Е. В. Топникова – участие в проведении исследований и анализе результатов.

Конфликт интересов

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

Contribution

N.P. Sorokina organized and supervised the research, wrote the review, analyzed the experimental results, and drafted the manuscript; O.V. Lepilkina wrote the review,

analyzed the experimental results, and drafted the manuscript; A.L. Brutsкая conducted the experiments and processed the results; E.V. Topnikova participated in the experimental research and analyzed the results.

Conflict of interest

The authors declared no potential conflict of interest regarding the research, authorship, and / or publication of this article.

Список литературы / References

1. Coelho MC, Malcata FX, Silva CCG. Lactic acid bacteria in raw-milk cheeses: From starter cultures to probiotic functions. *Foods*. 2022;11(15):2276. <https://doi.org/10.3390/foods11152276>
2. Функ И. А., Отт Е. Ф., Орлова Т. Н., Дорофеев Р. В., Шевченко К. Е. Лактобациллы и их применение в биотехнологии. *Молочная промышленность*. 2020. № 6. С. 19–21. [Funk IA, Ott EF, Orlova TN, Dorofeev RV, Shevchenko KE. Lactobacilli and their use in biotechnology. *Dairy industry*. 2020;(6):19–21. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-06-19-20>
3. Лепилкина О. В., Григорьева А. И. Ферментативный протеолиз при преобразовании молока в сыр. *Пищевые системы*. 2023. Т. 6. № 1. С. 36–45. [Lepilkina OV, Grigorieva AI. Enzymatic proteolysis during the conversion of milk into cheese. *Food systems*. 2023;6(1):36–45. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-36-45>
4. Китаевская С. В., Пономарев В. Я., Решетник О. А. Оценка протеолитической активности новых штаммов лактобацилл с криорезистентными свойствами. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2022. Т. 12. № 1. С. 76–86. [Kitaevskaya SV, Ponomarev VY, Reshetnik OA. Evaluation of the proteolytic activity of new cryoresistant lactobacillus strains. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):76–86. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-76-86>
5. Альхатиб К. М., Данильчук Т. Н. Использование протеолитических свойств биомассы молочнокислых микроорганизмов для создания новых продуктов питания. *Health, Food & Biotechnology*. 2022. Т. 4. № 4. С. 65–77. [Alkhateeb KM, Danilchuk TN. Using the proteolytic properties of the biomass of lactic acid microorganisms to create new food products. *Health, Food & Biotechnology*. 2022;4(4):65–77. (In Russ.)] <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s160>
6. Kieliszek M, Pobiega K, Piwowarek K, Kot AM. Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria. *Molecules*. 2021;26(7):1858. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>
7. Gänzle MG. Lactic metabolism revisited: Metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science*. 2015;2:106–117. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.03.001>
8. Kurbanova M, Voroshilin R, Kozlova O, Atuchin V. Effect of lactobacteria on bioactive peptides and their sequence identification in mature cheese. *Microorganisms*. 2022;10(10):2068. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10102068>
9. Afshari R, Pillidge CJ, Dias DA, Osborn AM, Gill H. Cheesomics: The future pathway to understanding cheese flavour and quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020;60(1):33–47. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1512471>
10. Choi J, Han HU. Microbial proteases in fermentation. In: Ray RC, Montet D, editors. *Fermented foods, part II. Technological interventions*. Boca Raton: CRC Press; 2015. pp. 103–121.
11. Abarquero D, Duque C, Bodelón R, López I, Muñoz J, et al. Autochthonous cultures to improve the quality of PGI Castellano cheese: Impact on proteolysis, microstructure and texture during ripening. *Food Research International*. 2024;186:114306. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114306>
12. Choi J, Lee SI, Rackerby B, Frojen R, Goddik L, et al. Assessment of overall microbial community shift during Cheddar cheese production from raw milk to aging. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020;104(14):6249–6260. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10651-7>
13. Wilbey RA. Heat treatment of foods. Principles of pasteurization. In: *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition). London: Academic Press; 2014. pp. 169–174. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00159-2>
14. Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, Franz CMAP, Harris HMB, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2020;70(4):2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>
15. Gobbetti M, de Angelis M, di Cagno R, Mancini L, Fox PF. Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/Adjunct starters for cheese ripening. *Trends in Food Science & Technology*. 2015;45(2):167–178. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.016>
16. de Pasquale I, di Cagno R, Buchin S, de Angeli SM, Gobbetti M. Use of autochthonous mesophilic lactic acid bacteria as starter cultures for making Pecorino Crotonese cheese: Effect on compositional, microbiological and biochemical attributes. *Food Research International*. 2019;116:1344–1356. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.024>
17. Nicosia FD, Pino A, Maciel GLR, Sanfilippo RR, Caggia C, et al. Technological characterization of lactic acid bacteria strains for potential use in cheese manufacture. *Foods*. 2023;12(6):1154. <https://doi.org/10.3390/foods12061154>

18. Carafa I, Stocco G, Franceschi P, Summer A, Tuohy KM, *et al.* Evaluation of autochthonous lactic acid bacteria as starter and non-starter cultures for the production of Traditional Mountain cheese. *Food Research International*. 2019;115:209–218. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.069>
19. Карычев Р, Елисеева Т. Бактериальные культуры «Crealat» и натуральные ферменты «Crearen» – ваш успех в производстве сыров. Сыроделие и маслоделие. 2018. № 9. С. 28–29. [Karychev R, Eliseeva T. Bacterial cultures “Crealat” and natural enzymes “Crearen” – Your success in cheese production. *Cheese- and buttermaking*. 2018;(9):28–29. (In Russ.)]
20. Кашина Е. Д. Возможности расширения горизонтов. Сыроделие и маслоделие. 2020. № 3. С. 33–35. [Kashina ED. Opportunities for expanding horizons. *Cheese- and buttermaking*. 2020;(3):33–35. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/UBJJKG>
21. Мордвинова В. А. Актуальные вопросы ассортиментной политики сыродельного предприятия. Сыроделие и маслоделие. 2021. № 5. С. 8–9. [Mordvinova VA. Actual questions of assortment policy of a cheese making enterprise. *Cheese- and butter-making*. 2021;(5):8–9. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2021-5-8-9>
22. Araújo-Rodrigues H, dos Santos MTPG, Ruiz-Moyano S, Tavaría FK, Martins APL, *et al.* Technological and protective performance of LAB isolated from Serpa PDO cheese: Towards selection and development of an autochthonous starter culture. *LWT*. 2021;150:112079. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112079>
23. García-Cano I, Rocha-Mendoza D, Ortega-Anaya J, Wang K, Kosmerl E, *et al.* Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019;103:5243–5257. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09844-6>
24. Wang Y, Zhang C, Liu F, Jin Z, Xia X. Ecological succession and functional characteristics of lactic acid bacteria in traditional fermented foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2023;63(22):5841–5855. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.2025035>
25. Yang S, Bai M, Kwok L-Y, Sun Z. The intricate symbiotic relationship between lactic acid bacterial starters in the milk fermentation ecosystem. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2025;65(4):728–745. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2280706>
26. Canon F, Nidelet T, Guédon E, Thierry A, Gagnaire V. Understanding the mechanisms of positive microbial interactions that benefit lactic acid bacteria co-cultures. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:2088. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02088>
27. Gaudy P, Yamamoto Y, Jensen PR, Hammer K, Lechardeur D, *et al.* Genetics of Lactococci. *ASM Journals. Microbiology Spectrum*. 2019;7(4):1–25. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0035-2018>
28. Aljewicz M, Cichosz G, Nalepa B, Kowalska M. Influence of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Lactobacillus rhamnosus* HN001 on proteolysis patterns of Edam cheese. *Food Technology and Biotechnology*. 2014;52(4):439–447. <https://doi.org/10.17113/ftb.52.04.14.3659>
29. Загайнова А. В., Федец З. Е., Панькова М. Н., Новожилов К. А., Грицюк О. В. и др. Лактобациллы как составная часть микробиоты кишечника и их значение в физиологическом состоянии человека. Российский журнал экологической и восстановительной медицины. 2022. № 4. С. 12–25. [Zagaynova AV, Fedets ZE, Pan'kova MN, Novozhilov KA, Gritsyuk OV, *et al.* Lactobacillies as a component of the intestinal microbiota and their significance in the physiological state of humans. *Russian Journal of Environmental and Rehabilitation Medicine*. 2022;(4):12–25. (In Russ.)]
30. Glück C, Stressler T, Fischer L. Heat-stable microbial peptidases associated with the microbiota of raw milk. In: Kelly AL, Larsen LB, editors. *Agents of Change. Enzymes in Milk and Dairy Products*. Cham: Springer Cham; 2021. pp. 269–290.

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2594>
<https://elibrary.ru/BJRUER>

Краткое сообщение
<https://fptt.ru>

Применение штаммов лактобактерий с заданными технологическими свойствами в биотехнологии кисломолочного масла



А. М. Хозиев^{1,*}, И. А. Евдокимов², Б. Г. Цугкиев¹,
О. К. Гогаев¹, Р. Г. Кабисов¹, А. Ч. Гагиева¹, С. А. Гревцова¹

¹ Горский государственный аграрный университет, Владикавказ, Россия

² Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

Поступила в редакцию: 12.03.2025

Принята после рецензирования: 25.04.2025

Принята к публикации: 06.05.2025

*А. М. Хозиев: hoziev_alan@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-5847-5223>

И. А. Евдокимов: <https://orcid.org/0000-0002-5396-1548>

Б. Г. Цугкиев: <https://orcid.org/0000-0003-1050-6606>

О. К. Гогаев: <https://orcid.org/0000-0001-7059-9694>

Р. Г. Кабисов: <https://orcid.org/0000-0003-3053-6204>

А. Ч. Гагиева: <https://orcid.org/0000-0002-0566-7854>

С. А. Гревцова: <https://orcid.org/0000-0001-6967-0246>

© А. М. Хозиев, И. А. Евдокимов, Б. Г. Цугкиев, О. К. Гогаев,
Р. Г. Кабисов, А. Ч. Гагиева, С. А. Гревцова, 2025



Аннотация.

Обогащение молочной продукции новыми штаммами пробиотических лактобактерий является актуальной задачей при проведении исследований и производстве. Цель данной работы – изучение возможности использования штаммов лактобактерий селекции научно-исследовательского института биотехнологии Горского государственного аграрного университета *Lactobacillus plantarum* и *Enterococcus hirae* для приготовления кисломолочного масла.

Объектами исследования послужили культуры штаммов лактобактерий селекции НИИ биотехнологии Горского ГАУ (Владикавказ, Россия) *L. plantarum* и *E. hirae*, симбиотическая закваска на их основе, сливки из коровьего молока и кисломолочное масло. Оценка показателей качества проводилась с использованием анализатора молока «Клевер», а также с применением стандартных методов: для сливок (физико-химические показатели), для лактобактерий (определение скорости сгусткообразования, кислотности) и для масла (органолептические, физико-химические и микробиологические показатели).

Изучены органолептические и физико-химические свойства сливок, а также скорость образования сгустка и повышение кислотности сквашиваемых сливок при культивировании *L. plantarum* и *E. hirae*. Исследованы физико-химические показатели кисломолочного масла. Симбиотическая закваска *L. plantarum* и *E. hirae* в соотношении 1:1 образовывала сгусток при кислотности 68,00 °Т за 6 ч ферментации, *L. plantarum* – за 6 ч при кислотности 56,00 °Т, а *E. hirae* – за 7 ч при кислотности 65,00 °Т. Предельная кислотообразующая способность *L. plantarum* составила 323 °Т через 6 суток инкубирования, *E. hirae* – 170 °Т за 5 суток, а у симбиотической культуры – 220 °Т за 4 суток. Технология производства кисломолочного масла включала пастеризацию, охлаждение, нагрев, внесение закваски (*L. plantarum* и *E. hirae*), сбивание, обработку масляного зерна и придание формы. Кисломолочное масло, изготовленное с использованием симбиотической закваски, содержало 25,2 % влаги, 71,4 % жира при калорийности 665,0 ккал. Определение товарных свойств показало, что масло имело желтый цвет, плотную консистенцию, блестящую поверхность и выраженный кисломолочный вкус и запах.

Образцы кисломолочного масла обладали высокими органолептическими показателями, что позволяет рекомендовать соответствующим предприятиям производить данный продукт с использованием штаммов микроорганизмов *L. plantarum* и *E. hirae* в соотношении 1:1.

Ключевые слова. Лактобактерии, кисломолочное масло, молочнокислые микроорганизмы, закваска, штаммы, симбиотическая культура

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-26-00264, <https://rscf.ru/project/25-26-00264/>

Для цитирования: Хозиев А. М., Евдокимов И. А., Цугкиев Б. Г., Гогаев О. К., Кабисов Р. Г. и др. Применение штаммов лактобактерий с заданными технологическими свойствами в биотехнологии кисломолочного масла. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 552–557. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2594>

Lactobacilli Strains with Targeted Technological Properties in Sour-Cream Butter Biotechnology

Alan M. Khoziev^{1,*}, Ivan A. Evdokimov², Boris G. Tsugkiev¹,
Oleg K. Gogaev¹, Ruslan G. Kabisov¹, Larisa Ch. Gagieva¹,
Svetlana A. Grevtsova¹



¹ Gorsky State Agrarian University^{ROR}, Vladikavkaz, Russia

² North-Caucasus Federal University^{ROR}, Stavropol, Russia

Received: 12.03.2025

Revised: 25.04.2025

Accepted: 06.05.2025

*Alan M. Khoziev: hoziev_alan@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-5847-5223>

Ivan A. Evdokimov: <https://orcid.org/0000-0002-5396-1548>

Boris G. Tsugkiev: <https://orcid.org/0000-0003-1050-6606>

Oleg K. Gogaev: <https://orcid.org/0000-0001-7059-9694>

Ruslan G. Kabisov: <https://orcid.org/0000-0003-3053-6204>

Larisa Ch. Gagieva: <https://orcid.org/0000-0002-0566-7854>

Svetlana A. Grevtsova: <https://orcid.org/0000-0001-6967-0246>

© A.M. Khoziev, I.A. Evdokimov, B.G. Tsugkiev, O.K. Gogaev, R.G. Kabisov,
L.Ch. Gagieva, S.A. Grevtsova, 2025



Abstract.

Dairy products can be fortified with new valuable strains of probiotic lactobacilli. This research tested two new lactobacilli strains for prospects in sour-cream butter production.

The lactobacilli strains of *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus hirae* were selected at the Research Institute of Biotechnology, Gorsky State Agrarian University. The study also involved a symbiotic starter based on these strains, cow's milk cream, and sour-cream butter. The quality indicators were assessed using a Klever milk analyzer and a set of standard methods: physicochemical indicators for the cream, clot formation rate and pH for the lactobacilli, and sensory, physicochemical, and microbiological indicators for the butter.

The study revealed the sensory and physicochemical profile of the cream, the curdling rate and the pH rate of the sour-cream during cultivation, and the physicochemical parameters of the resulting sour-cream butter. It took the symbiotic starter of *L. plantarum* and *E. hirae* (1:1) 6 h to curd at an acidity of 68.00 °T; *L. plantarum* curdled in 6 h at 56.00 °T; *E. hirae* curdled in 7 h at 65.00 °T. The maximal acid-forming capacity of *L. plantarum* was 323 °T (6 days of incubation), that of *E. hirae* was 170 °T (5 days), and that of the symbiotic culture was 220 °T (4 days). The technology of producing sour-cream butter included pasteurization, cooling, heating, adding starter (*L. plantarum* and *E. hirae*), churning, processing butter granules, and shaping. The sour-cream butter sample produced with the symbiotic starter contained 25.2% moisture and 71.4% fat; it had a caloric value of 665.0 kcal. It was yellow, dense, and shiny, with a characteristic sour-cream taste and smell.

The experimental sour-cream butter demonstrated excellent sensory indicators and could be recommend for industrial production with strains of *L. plantarum* and *E. hirae* in a ratio of 1:1.

Keywords. Lactobacilli, cultured butter, lactic acid microorganisms, starter culture, strains, symbiotic culture

Funding. The research was carried out at the expense of a grant of Russian Science Foundation No. 25-26-00264, <https://rscf.ru/project/25-26-00264>

For citation: Khoziev AM, Evdokimov IA, Tsugkiev BG, Gogaev OK, Kabisov RG, *et al.* Lactobacilli Strains with Targeted Technological Properties in Sour-Cream Butter Biotechnology. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):552–557. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2594>

Введение

Сохранение и развитие российского производства кисломолочной продукции в условиях санкционного давления является важной задачей. Кисломолочные продукты, производимые на основе заквасок из молочно-кислых бактерий, формируют быстрорастущий сегмент

молочной промышленности – производство пробиотических продуктов [1]. Применение штаммов лактобактерий местной селекции позволяет получать продукцию с заданными функциональными свойствами в соответствии с требованиями стандартов [2–4]. Также актуальным является применение данных штаммов

лактобактерий при производстве ценных пищевых и лечебных кисломолочных продуктов. В исследовании О. Д. Сидоренко с соавторами [5] изучены ценозы национальных кисломолочных продуктов и отдельных видов лактобактерий, способных укреплять иммунитет и служить заменой антибиотикам. В работе Е. В. Ивановой [6] рассмотрены способы получения кислосливочного масла, используемые закваски, а также физико-химические и органолептические показатели масла (непосредственно после выработки и в процессе хранения).

Кислосливочное масло, получаемое из пастеризованных сливок с закваской, приобретает характерный вкус и запах благодаря молочной кислоте и ароматическим веществам, образующимся в процессе биохимического созревания сливок под воздействием микрофлоры [7].

В исследовании [8] описаны различия методов маслообразования, определяющие аппаратное оформление технологического процесса, состав и свойства вырабатываемого масла. В качестве варианта реализации технологии производства сливочного масла предлагается использование комплексных линий, включающих маслоизготовители непрерывного действия для сбивания, посолки и обработки масла в потоке [9]. При этом длительность процессов сбивания сливок и обработки масляного зерна значительно сокращаются. Отмечается, что поточный двухстадийный способ физического созревания сливок влияет на свойства и качество сливочного масла [10].

Важную роль играют технологические факторы, обеспечивающие качество и хранимостпособность масла [11], а также увеличение сроков годности сливочного масла за счет применения инновационного оборудования [12]. Большое внимание исследователи уделяют влиянию вида упаковки на качество и хранимостпособность сливочного масла [13].

Значимым технологическим инструментом при получении высококачественных молочных продуктов, а также при производстве паст, намазков и сливочного масла являются закваски [14–18]. Практический интерес представляют исследования по применению штаммов *Lactobacillus acidophilus* в качестве пробиотической закваски при изготовлении кислосливочного масла при помощи поточного маслообразователя скребкового типа [19]. Благодаря закрытому потоку риск инокуляции условно-патогенными микроорганизмами кислосливочного масла, полученного на данном оборудовании, в 102 раз ниже, чем при использовании других типов промышленных маслообразователей.

И. В. Ганиной с соавторами [20] изучено влияние закваски, содержащей штаммы-продуценты антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы, на показатели качества кислосливочного масла. Результаты указывают на целесообразность применения новой закваски в технологии кислосливочного масла для повышения стабильности качества при хранении.

Целью данной работы являлось изучение возможности использования штаммов лактобактерий селекции

научно-исследовательского института биотехнологии Горского государственного аграрного университета *Lactobacillus plantarum* и *Enterococcus hirae* для приготовления кислосливочного масла.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования послужили чистые культуры штаммов лактобактерий селекции научно-исследовательского института биотехнологии Горского государственного аграрного университета (Владикавказ, Россия) *Lactobacillus plantarum* и *Enterococcus hirae*, их симбиотическая закваска на обезжиренном молоке в соотношении 1:1, сливки из коровьего молока, а также образцы кислосливочного масла, изготовленного с использованием анализируемых штаммов лактобактерий. Созревание сливок происходило в течение 10 ч при температуре 7 ± 2 °C, сбивание – 45 мин при 15 ± 1 °C.

Работа проводилась в несколько этапов:

- подготовка и оценка качества сливок;
- изучение технологических свойств молочнокислых микроорганизмов *L. plantarum* и *E. hirae*;
- разработка технологии производства кислосливочного масла с применением штаммов лактобактерий селекции Горского ГАУ;
- определение товарных свойств полученного масла с использованием штаммов (*L. plantarum* и *E. hirae*).

Для определения качественных и количественных характеристик сливок в исследовании применяли анализатор молока «Клевер» и общепринятые методики, соответствующие ГОСТ 34355-2017. Оценивали следующие физико-химические показатели: температура (ГОСТ 3622-84), титруемая кислотность (ГОСТ 3624-92), массовая доля жира (ГОСТ 5867-90), содержание сухих веществ (ГОСТ Р 54668-2011), массовая доля белка (ГОСТ 23327-98). Также определяли органолептические показатели (ГОСТ 32261-2013), эффективность пастеризации сливок-сырья (ГОСТ 3623-2015) и обсемененность кишечной палочкой (ГОСТ 32901-2014). При изучении технологических свойств *L. plantarum* и *E. hirae* определяли: скорость образования сгустка, почасовое накопление кислоты, предельную кислотообразующую способность.

Анализ образцов кислосливочного масла проводили согласно установленным стандартам: органолептические показатели по ГОСТ 32261-2013, определение содержания жира по ГОСТ 5867-90, титруемой кислотности плазмы по ГОСТ 3624-92, массовой доли белка по ГОСТ 25179-2014, сухого обезжиренного молочного остатка по ГОСТ 54668-2011, содержания влаги по ГОСТ 3626-73, микробиологических показателей по ГОСТ 32901-2014.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе, для контроля соответствия сырья требованиям технологии, определены качественные показатели сырья (сливки) для приготовления масла (табл. 1).

Таблица 1. Органолептические и физико-химические показатели сливок

Table 1. Sensory profile of cream

Показатель	Характеристика
Органолептические свойства	
Внешний вид	Однородная непрозрачная жидкость, с незначительным отстоем жира, исчезающем при перемешивании
Консистенция	Однородная, в меру вязкая. Без хлопьев белка и сбившихся комочков жира
Вкус и запах	Слегка сладковатый, чистый, без посторонних привкусов и запахов
Цвет	Белый, с кремовым оттенком, равномерный по всей массе
Физико-химические показатели	
Сухие вещества, %	38,50
Массовая доля белка, %	2,50
Массовая доля жира, %	36,00
Сухой обезжиренный молочный остаток, %	3,80
Влага, %	61,20
Титруемая кислотность, °Т	16,00
Плотность, г/см ³	1,016
Бактериальная обсемененность, класс	I

Таблица 2. Почасовое повышение кислотности, °Т, и время образования сгустка

Table 2. Curdling rate and pH increase (by hour), °Т

Штамм	Продолжительность инкубирования, ч						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Lactobacillus plantarum</i>	28,00 ± 0,20	30,00 ± 1,50	32,00 ± 1,40	35,00 ± 1,00	45,00 ± 0,20	56,00 ± 0,20 (сгусток)	–
<i>Enterococcus hirae</i>	21,00 ± 0,10	23,00 ± 0,20	34,00 ± 0,40	38,00 ± 0,41	48,00 ± 0,30	61,00 ± 0,15	65,00 ± 0,10 (сгусток)
<i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Enterococcus hirae</i>	27,00 ± 0,20	29,00 ± 0,20	40,00 ± 0,30	43,00 ± 0,30	52,00 ± 0,20	68,00 ± 0,20 (сгусток)	–

Органолептическая оценка сливок показала их соответствие требованиям ГОСТ 34355-2017 «Сливки сырые. Технические условия», что подтвердило пригодность сырья для дальнейшей работы. В результате технологической обработки сливки имели отличное от молока соотношение составных частей, которое зависело от ряда факторов и влияло на их физико-химические свойства (табл. 1). Кислотность сливок составила 16,00 °Т, что свидетельствовало о свежести и их пригодности для приготовления масла.

Следующим этапом работы стало изучение технологических свойств используемых молочнокислых микроорганизмов, поскольку эти свойства напрямую влияют на качество и характеристики конечного продукта. В рамках этого этапа определяли почасовую динамику кислотообразования и предельную кислотообразующую способность штаммов лактобактерий *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus hirae* и их смеси в соотношении 1:1. Об эффективности развития лактобактерий судят по ферментативной активности или накоплению кислоты за определенный промежуток времени. Данное свойство продуцентов является важным для интенсификации процесса производства. Результаты исследований интенсивности кислотообразова-

ния штаммами лактобактерий селекции НИИ биотехнологии представлены в таблице 2.

Из анализа данных, приведенных в таблице 2, следует, что смешанная культура лактобактерий образовала сгусток за 6 ч ферментации при кислотности 68,00 °Т. Штамм *L. plantarum* достиг аналогичного результата за то же время, но при кислотности 56,00 °Т, а *E. hirae* образовал сгусток на 1 ч позже при кислотности 65,00 °Т. Для более полной характеристики их технологических свойств далее была определена предельная кислотность, достигаемая при сквашивании сливок (табл. 3).

В процессе приготовления масла использовали симбиотическую закваску из молочнокислых микроорганизмов: *L. plantarum* и *E. hirae*, которая состояла из чистых культур молочнокислых микроорганизмов в соотношении 1:1 и имеет плотный ровный (без разрывов) сгусток, выраженный чистый кисло-молочный аромат.

Процесс разработки технологии производства кисломолочного масла с применением штаммов лактобактерий местной селекции включал следующие этапы: пастеризация сливок (90 °С, без выдержки), охлаждение (10 °С, выдержка 2 ч), постепенный нагрев

Таблица 3. Предельная кислотность сквашенных сливок при культивировании молочнокислых микроорганизмов, °Т

Table 3. Maximal acidity of sour cream during cultivation of lactic acid microorganisms, °T

Штамм	Продолжительность инкубирования, сутки						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Lactobacillus plantarum</i>	144	225	250	264	300	323	319
<i>Enterococcus hirae</i>	112	135	141	150	170	161	–
<i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Enterococcus hirae</i>	140	161	200	220	215	–	–

Таблица 4. Физико-химические показатели кисломолочного масла

Table 4. Physicochemical profile of sour-cream butter

Показатель	Результат
Массовая доля жира, %	71,40 ± 0,20
Массовая доля влаги, %	25,20 ± 0,10
Массовая доля белка, %	2,40 ± 0,20
Сухой обезжиренный молочный остаток, %	1,00 ± 0,20
Титруемая кислотность молочной плазмы, °Т	61,00 ± 0,30
Калорийность, ккал	665,00 ± 0,60
Обсемененность бактериями группы кишечной палочки, в 0,01 г масла	–

(до 20 °С), внесение закваски (*L. plantarum* и *E. hirae*, 5 % от массы сливок), сбивание (45 мин), слив пахты, обработка масляного зерна и придание товарной формы.

На завершающем этапе работы проведено определение товарных свойств полученного кисломолочного масла с использованием штаммов *L. plantarum* и *E. hirae*. Исследование органолептических свойств показало, что масло имело желтый цвет, плотную консистенцию, блестящую поверхность на срезе и выраженный кисломолочный вкус и запах. Физико-химические показатели масла представлены в таблице 4.

Выводы

В рамках данной работы, включавшей оценку качества сливок, изучение технологических свойств *Lactobacillus plantarum* и *Enterococcus hirae*, разработку технологии производства кисломолочного масла и определение товарных свойств, получены следующие результаты: по органолептическим и физико-химическим показателям сливки, используемые в экспериментальных выработках, соответствовали требованиям качества к данному виду сырья. Смешанная культура лактобактерий *L. plantarum* и *E. hirae* образовывала сгусток при достижении титруемой кислотности 68,00 °Т за 6 ч ферментации. Аналогичное время образования сгустка при использовании штамма *L. plantarum* установлено по достижению титруемой кислотности 56,00 °Т. Штамм *E. hirae* образовывал сгусток при 65,00 °Т за 7 ч. Образцы кисломолочного масла обладали высокими органолептическими показателями, что позволяет рекомендовать соответствующим предприятиям производить данный продукт с использованием штаммов микроорганизмов *L. plantarum* и *E. hirae* в соотношении 1:1.

Критерии авторства

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

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

Contribution

The authors contributed equally to this research and bear equal responsibility for any potential cases of plagiarism.

Conflict of interest

The authors declared no potential conflict of interest regarding the research, authorship, and / or publication of this article.

Список литературы / References

1. Карычева О. В. Новые культуры для кисломолочных продуктов в ассортименте компании «Христиан Хансен». Молочная промышленность. 2007. № 11. С. 28–30. [Karycheva OV. New cultures for the fermented milk products in the variety range of the “Chr. Hansen” company. Dairy Industry. 2007;(11):28–30. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/ICDTGV>
2. Кабисов Р. Г., Рамонова Э. В., Рехвиашвили Э. И., Петрукович А. Г., Хозиев А. М. Лактобактерии селекции горского ГАУ в составе закваски для производства сметаны «Лакомка» из топленых сливок. Известия Горского государственного аграрного университета. 2020. Т. 57. № 1. С. 141–146. [Kabisov RG, Ramonova EV, Rekhviashvili EI, Petrukovich AG, Khoziev AM. Lactobacteria of Gorsky SAU selection as a part of starter to produce sour cream "Lakomka" from clotted cream. News of the Gorsky State Agrarian University. 2020;57(1):141–146. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/YDRANF>
3. Цугкиев Б. Г., Рамонова Э. В., Соловьева Ю. В., Хозиев А. М., Кабисов Р. Г. и др. Штамм лактобактерий *Lactobacillus plantarum* – продуцент молочной кислоты, антибиотических веществ и компонент закваски для производства кисломолочных продуктов: пат. 2704857 Рос. Федерация. №2018139600; заявл. 11.08.2018; опубл. 31.10.2019. Бюл. № 31. [Tsugkiev BG, Ramonova EV, Soloveva YuV, Khoziev AM, Kabisov RG, et al. Strain of lactobacilli *Lactobacillus plantarum* – producer of lactic acid, antibiotic substances and starter component for production of fermented milk products. Russia patent RU 2704857. 2019.] <https://elibrary.ru/ICMSFY>

4. Цугкиев Б. Г., Рамонова Э. В., Цугкиева И. Б., Соловьева Ю. В., Хозиев А. М. и др. Штамм лактобактерий *Enterococcus hirae* – продуцент молочной кислоты и антибиотических веществ и компонент закваски для производства пробиотических напитков: пат. 2705270 Рос. Федерация. №2018139696, заявл. 11.08.2018; опубл. 11.06.2019. Бюл. № 31. [Tsugkiev BG, Ramonova EV, Tsugkieva IB, Soloveva YuV, Khoziev AM, et al. *Enterococcus hirae* lactobacillus strain – producer of lactic acid and antibiotic substances and starter component for production of probiotic beverages. Russia patent RU 2705270. 2019.] <https://elibrary.ru/AMIVXD>
5. Сидоренко О. Д., Жукова Е. В., Пастух О. Н. Биологическая активность лактобактерий природных заквасок. Успехи современной науки. 2017. Т. 2. № 10. С. 34–37. [Sidorenko OD, Zhukova EV, Pastuh ON. The biological activity of the natural lactic acid bacteria starter cultures. Modern Science Success. 2017;2(10):34–37. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/ZELBDP>
6. Иванова Е. В. Использование заквасок при производстве кисло-сливочного масла. Цифровые технологии – основа современного развития АПК: Смоленск, 10 ноября 2020 года. Сборник материалов Междунар. науч. конф. Смоленск, 2020. Т. 1. С. 44–49. [Ivanova EV. Starters in sour-cream butter production. Digital technologies for modern agro-industrial development: Smolensk, November 10, 2020. Intern. Sci. Conf. Smolensk, 2020;1:44–49. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/YXCORO>
7. Вышемирский Ф. А., Топникова Е. В., Павлова Т. Д. и др. Исследования технологии кисломолочного масла. Сыроделие и маслоделие. 2008. № 5. С. 45–46. [Vyshemirskii FA, Topnikova EV, Pavlova TD, et al. Study of the cultured butter technology. Cheese- and Buttermaking. 2008;(5):45–46. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/LPXDMZ>
8. Вышемирский Ф. А. Принципиальная классификация методов производства сливочного масла. Сыроделие и маслоделие. 2012. № 6. С. 45–49. [Vyshemirskii FA. Principle classification of the dairy butter production methods. Cheese- and Buttermaking. 2012;(6):45–49. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/PJOJBV>
9. Володин Д. Н., Гридин А. С., Хуршидов А. Т., Шрамко М. И., Лапшенкова Ю. В. Производство сливочного масла как элемент организации комплексной переработки молочного сырья. Сыроделие и маслоделие. 2019. № 1. С. 55–56. [Volodin DN, Gridin AS, Hurshydov AT, Shramko MI, Lapshenkova YuV. Dairy butter production as an element of organizing complex milk raw materials processing. Cheese- and Buttermaking. 2019;(1):55–56. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/YYIJAL>
10. Раттур Е. В., Куленко В. Г., Червецов В. В., Галстян А. Г. Совершенствование техники и технологии производства сливочного масла методом непрерывного сбивания сливок. Молочнохозяйственный вестник. 2015. № 4. С. 79–88. [Rattur EV, Kulenko VG, Chervetsov VV, Galstyan AG. Improving the methods and technology of cream-butter production by the continuous cream stirring. Molochnohozyaistvenny Vestnik. 2015;(4):79–88. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/VDEZYR>
11. Топникова Е. В. Основные факторы, влияющие на качество и хранимостепособность сливочного масла. Сыроделие и маслоделие. 2011. № 4. С. 51–54. [Topnikova EV. Principle factors effecting quality and keepability of the dairy butter. Cheese- and Buttermaking. 2011;(4):51–54. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/OFXWUZ>
12. Гуща Ю. М., Топникова Е. В., Иванова Н. В. Увеличение сроков годности сливочного масла. Молочная промышленность. 2018. № 3. С. 28–32. [Gushcha YuM, Topnikova EV, Ivanova NV. Extending sell-by date of the sweet butter. Dairy Industry. 2018;(3):28–32. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/YORRAJ>
13. Захарова М. Б., Пирогова Е. Н., Топникова Е. В. Влияние вида упаковки на качество и хранимостепособность сливочного масла. Сыроделие и маслоделие. 2024. № 4. С. 91–100. [Zakharova MB, Pirogova EN, Topnikova EV. Effect of packaging on butter quality and shelf-life. Cheese- and Buttermaking. 2024;(4):91–100. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2073-4018-2024-4-6>
14. Li P, Mei J, Xie J. The regulation of carbon dioxide on food microorganisms: A review. Food Research International. 2023;172:113170. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113170>
15. Зимняков В. М., Гаврюшина И. В. Заквасочная культура – технологический инструмент высококачественных молочных продуктов. Инновационная техника и технология. 2014. № 4. С. 8–12. [Zimniakov VM, Gavryshina IV. Impact on technological properties of prebiotics dairy and meat products. Innovative Machinery And Technology. 2014;(4):8–12. (In Russ.)]
16. Linares DM, Gómez C, Renes E, Fresno JM, Tornadijo ME, et al. Lactic acid bacteria and bifidobacteria with potential to design natural biofunctional health-promoting dairy foods. Frontiers in Microbiology. 2017;8:846. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00846>
17. Fijan S. Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2014;11(5):4745–4767. <https://doi.org/10.3390/ijerph110504745>
18. Evvie SE, Huo GC, Igene JO, Bian X. Some current applications, limitations and future perspectives of lactic acid bacteria as probiotics. Food & Nutritional Research. 2017;61(1). <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1318034>
19. Лапшенкова Ю. В., Дыкало Н. Я., Шрамко М. И., Сложенкина М. И., Евдокимов И. А. Практические аспекты применения бактериальных заквасок при производстве кисломолочного масла, полученного на поточном маслообразователе скребкового типа. Современная наука и инновации. 2019. № 3. С. 69–77. [Lapshenkova YuV, Dykalo NYa, Shramko MI, et al. Practical aspects of the application of bacterial starter culture in the production of sour-cream butter obtained on a continuous butter making machines. Modern Science and Innovations. 2019;(3):69–77. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/KTDBZU>
20. Ганина В. И., Морозова В. В., Гучок Ж. Л., Демидович А. Д. Инновационное направление повышения качества кисло-сливочного масла. Сыроделие и маслоделие. 2020. № 4. С. 47–49. [Ganina VI, Morozova VV, Guchok GL, Demidovich AD. The innovative direction of improving the quality of sour-cream butter. Cheese- And Buttermaking. 2020;(4):47–49. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2020-4-47-49>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2587>
<https://elibrary.ru/JBSFIU>

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

Effect of Nutrient Medium Composition on Bacterial Cellulose: Yield and Physicochemical Profile



Abdoul-Galil Ahmed Ali^{1,*}, Olga V. Kriger^{1,2,**}

¹ ITMO University, St. Petersburg, Russia

² Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

Received: 14.04.2025

Revised: 27.05.2025

Accepted: 01.07.2025

*Abdoul-Galil Ahmed Ali: abdoulgalil49@gmail.com,
<https://orcid.org/0009-0007-3982-2131>

**Olga V. Kriger: ovkriger@itmo.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-1489-0716>

© A-G.A. Ali, O.V. Kriger, 2025



Abstract.

Bacterial cellulose differs from plant cellulose: its unique properties include a strong crystalline nanostructure and a high degree of polymerization. In addition, it is more pure than traditional cellulose as it contains neither lignin nor hemicellulose. These qualities make it a promising alternative to plant cellulose in several industries. Bacterial cellulose with the specific physicochemical profile can be obtained only if the metabolizing properties of its producer have been considered. This article describes the effect of nutrient medium compositions with different carbon sources, vitamins, mineral salts, and acids on the yield and properties of bacterial cellulose.

Acetic acid bacteria *Acetobacterium xylinum* B-12429 were cultivated statically at 28°C for 72 h on the Hestrin-Schramm medium with varying carbon sources and growth factors.

The highest biomass yield (4.4 g/L) was obtained on cultivation day 10 in the sample with 20.0 g/L fructose. Glucose provided a lower productivity of 3.6 g/L. The bacterial cellulose yield also proved to depend on the concentration of the main carbon source: it was at its maximum at 10%. Adding ascorbic acid and MgSO₄ also catalyzed the biosynthesis. The structural profile was studied using infrared spectroscopy and scanning electron microscopy. It included such physicochemical properties as water-holding capacity and crystallinity indices I_{α} and I_{β} . The biofilms produced from the media fortified with xylose and sorbitol demonstrated excellent water-holding capacity; all the samples demonstrated a stable crystalline structure regardless of the carbon source.

The composition of the nutrient media had a significant effect on the yield and quality of biosynthesis. An optimized nutrient composition was able to boost biosynthesis, making the method applicable to industrial scales of high-quality bacterial cellulose production.

Keywords. Bacterial cellulose, biosynthesis, carbon sources, physicochemical properties, *Acetobacterium xylinum*

Funding. The research was supported by the Russian Science Foundation, agreement No. 24-24-00169.

For citation: Ali A-GA, Kriger OV. Effect of Nutrient Medium Composition on Bacterial Cellulose: Yield and Physicochemical Profile. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):558–566. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2587>

Влияние состава питательной среды на продуктивность и физико-химические свойства бактериальной целлюлозы



А.-Г. А. Али^{1,*}, О. В. Кригер^{1,2,**}

¹ Национальный исследовательский университет ИТМО^{OR}, Санкт-Петербург, Россия

² Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта^{OR}, Калининград, Россия

Поступила в редакцию: 14.04.2025

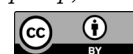
Принята после рецензирования: 27.05.2025

Принята к публикации: 01.07.2025

*А.-Г. А. Али: abdougalil49@gmail.com,
<https://orcid.org/0009-0007-3982-2131>

**О. В. Кригер: ovkriger@itmo.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-1489-0716>

© А.-Г. А. Али, О. В. Кригер, 2025



Аннотация.

Бактериальная целлюлоза обладает специфическими и уникальными свойствами, которые отличают ее от растительной. Она имеет высококристаллическую наноструктуру, высокую чистоту (отсутствие лигнина и гемицеллюлозы) и более высокую степень полимеризации, что делает ее перспективной альтернативой растительной целлюлозе для специфических применений. Для того, чтобы получить бактериальную целлюлозу с заданными физико-химическими характеристиками, необходимо тщательно исследовать способность ее продуцента метаболизировать различные источники углерода и их влияние на качество синтезированной целлюлозы. Целью данного исследования являлось изучение влияния состава питательной среды, включая источники углерода, витамины, минеральные соли и кислоты, на продуктивность и свойства бактериальной целлюлозы.

Объекты исследования – уксуснокислые бактерии *Acetobacterium xylinum* В-12429 (национальный биоресурсный центр ВКПМ). Культуру выращивали при температуре 28 °С в течение 72 ч на питательной среде Хестрина-Шрамма в присутствии различных источников углерода, а также дополнительных факторов роста в статических условиях при периодическом культивировании. Структурные характеристики полученных пленок бактериальной целлюлозы были изучены с помощью инфракрасной спектроскопии и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Оценивали физико-химические характеристики бактериальной целлюлозы, включая водоудерживающую способность и индексы кристалличности (I_α и I_β).

Максимальное накопление биомассы бактериальной целлюлозы на среде Хестрина-Шрамма происходило на 10 сутки культивирования в статических условиях. Наибольший выход бактериальной целлюлозы (4,4 г/л) получен с использованием фруктозы в качестве источника углерода с концентрацией 20,0 г/л. При использовании в качестве источника углерода глюкозы продуктивность бактериальной целлюлозы ниже (3,6 г/л). На продуктивность бактериальной целлюлозы оказывала влияние концентрация основного источника углерода: 10 % концентрация способствовала ее максимальному выходу. Внесение дополнительных компонентов в состав питательной среды, таких как аскорбиновая кислота и $MgSO_4$, эффективно влияет на продуктивность синтеза бактериальной целлюлозы. Биопленки бактериальной целлюлозы, полученные на среде HS с ксилитом и сорбитом, обладали наибольшей водоудерживающей способностью. Индексы кристалличности для всех образцов бактериальной целлюлозы были приблизительно равны 1, что свидетельствует о стабильной кристаллической структуре целлюлозы независимо от источника углерода в питательной среде.

Исследование показало, что состав питательных сред оказывает значительное влияние на биосинтез бактериальной целлюлозы. Эти результаты подчеркивают важность оптимизации состава питательных сред для повышения продуктивности ее биосинтеза, что может быть использовано в промышленности для получения высококачественной бактериальной целлюлозы.

Ключевые слова. Бактериальная целлюлоза, биосинтез, источники углерода, физико-химические свойства, *Acetobacterium xylinum*

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, соглашение № 24-24-00169.

Для цитирования: Али А.-Г. А., Кригер О. В. Влияние состава питательной среды на продуктивность и физико-химические свойства бактериальной целлюлозы. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 558–566. (На англ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2587>

Introduction

Cellulose is a biopolymer with a high degree of polymerization. It is composed of glucose monomers that are linked by $\beta(1-4)$ glycosidic bonds to form a long chain.

This polysaccharide is present in all living things, from bacteria and algae to plants and animals [1]. Cellulose is a highly abundant renewable biopolymer used in bio-compatible and environmentally sustainable solutions.

However, the growing demand for plant-based cellulose has boosted global wood consumption, which has made deforestation a major environmental issue [2].

Although plant cellulose is the most popular natural polymer, its complex chemical composition limits its use in cosmetics and pharmacy since it contains such impurities such as lignin, hemicellulose, and pectin.

Bacterial cellulose is synthesized by various bacteria, including *Komagataeibacter*, *Agrobacterium*, and *Pseudomonas* [3]. The Gram-negative acetic-acid *Komagataeibacter xylinus* often serve as a model organism due to its high cellulose productivity [4]. Bacterial cellulose is different from plant cellulose in some specific properties that depend on the culture conditions. In particular, it has a highly crystalline nanostructure (20–100 nm). It is pure in that it is free of lignin or hemicellulose. Its water-holding capacity is 200 times its dry weight. Finally, it boasts a high degree of polymerization. These properties make bacterial cellulose a good alternative to plant cellulose in biomedicine, cosmetics, high-quality acoustic diaphragms, papermaking, food industry, etc. [5, 6].

Bacterial cellulose is produced in the standard Hestrin-Schramm medium that consists of sources of carbon and nitrogen and growth factors, i.e., yeast extract and peptone, which makes the process economically unfeasible. Moreover, most strains are low-yielding, which means the method cannot be applied on industrial scale [6, 7]. The cultivation conditions are either static or with stirring, each yielding a particular morphological type of bacterial cellulose. The first one is a biofilm formed on the interface between air and liquid. The second is represented by granules that form stable suspensions [8].

Numerous studies have attempted to increase the yield of bacterial cellulose. Some focused on the nitrogen and carbon sources or minerals while others tested different cultivation variables, e.g., temperature, pH, dissolved oxygen, etc. [9]. As different carbon sources have different molecular weight, chemical structure, and bioavailability, their biosynthesis rates also differ significantly, not to mention structural flaws. As a result, bacterial cellulose production remains a costly business. The domestic bacterial cellulose industry needs to optimize its culture medium parameters, including composition, pH, and carbon source. The existing technological procedures face two fundamental limitations. First, the biosynthesis rate remains low. Second, the yield varies from batch to batch [10].

Bacterial cellulose with a specific physicochemical profile is a result of a comprehensive study into the metabolizing properties of each new cellulose producer in relation to various carbon sources and their effect on the quality of cellulose [10, 11].

Recent studies concentrate on alternative culture media obtained from agricultural and industrial wastes. Such economically viable solutions may help to achieve enough bacterial cellulose for industrial production [12].

For example, Saavedra-Sanabria *et al.* [10] used cocoa exudates to obtain 13.13 g/L bacterial cellulose. Sutthiphatkul *et al.* used rice noodles and *Komagataeibacter* sp. PAP1 strain to obtain 11.76 g/L bacterial cellulose [13].

Media obtained from food and agricultural wastes can reduce the cost and time of fermentation, thus producing more high-quality bacterial cellulose for large-scale multipurpose commercial production.

This research describes the effect of nutrient media with different compositions, carbon sources, vitamins, mineral salts, and acids, on the yield and properties of bacterial cellulose.

Study objects and methods

The bacterial strain of *Acetobacterium xylinum* B-12429 was purchased from the National Bioresource Center of the All-Russian Society of Microorganisms (Moscow, Russia) to serve as a model microorganism.

The culture was grown at 28°C for 72 h on a nutrient medium that contained 10.0 g/L yeast extract, 100.0 g/L glucose, and 20.0 g/L CaCO₃. Its pH was adjusted to 6.85. The autoclave sterilization lasted for 15 min at 121°C.

To prepare the inoculum, we incubated some of the culture in 50 cm³ of the sterile Hestrin-Schramm medium with 5.0 g/L yeast extract, 20.0 g/L glucose, 5.0 g/L peptone, 2.7 g/L Na₂HPO₄, and 1.15 g/L citric acid. Its pH was adjusted to 6.85 by adding acetic acid or NaOH.

We used the following reagents (20.0 g/L) as carbon sources: D-glucose (CAS No. 50-99-7, analytical grade, OOO LenReaktiv); D-fructose (CAS No. 57-48-7, analytical grade, OOO LenReaktiv); lactose monohydrate (CAS No. 63-42-3, analytical grade, OOO Reakhim); D-xylose (CAS No. 58-86-6, ≥ 99%, OOO Reakhim); maltose monohydrate (CAS No. 6363-53-7, analytical grade, OOO LenReaktiv); glycerin (CAS No. 56-81-5, analytical grade, OOO LenReaktiv); sucrose (CAS No. 57-50-1, analytical grade, OOO LenReaktiv); D-sorbitol (CAS No. 50-70-4, medical, OOO LenReaktiv); ethanol (CAS No. 64-17-5, 96%, special purity, OOO Kristopharm).

The incubation was carried out in stationary conditions at 28°C for 10 days.

After washing the resulting biofilm three times in an alkaline solution of 1 M (NaOH) at 80°C for 30 min, we washed the bacterial cellulose with hydrochloric acid (1 M) and distilled water until pH 7.

We used the gravimetric method to measure the yield of bacterial cellulose by drying it to a constant mass at 40°C on a second-class scale [14]. The amount was calculated as follows:

$$X = \frac{m_2 - m_1}{V} \quad (1)$$

where m_1 is the filter weight; m_2 is the filter weight with the bacterial cellulose film after drying; V is the volume of the nutrient medium.

The pH in the fermentation medium was controlled by direct potentiometry (ionometry) in an OHAUS

Starter ST300 multiparameter meter (OHAUS, China) with a ST320 pH electrode.

To record the infrared Fourier spectra, we used an infrared FT-IR Nicolet iS5 Spectrometer (Thermo Scientific, USA) in the mid-infrared region between 4,000 and 500 cm^{-1} . Purified and dried cellulose served as samples on an ID7 Diamond ATR unit.

The crystallinity index was calculated as in [15]:

$$IR = \frac{A_{1430}}{A_{893}} \quad (2)$$

The values of I_α and I_β were calculated as in [16]:

$$I_\beta = \frac{A_{710}}{A_{710} + A_{750}} \quad (3)$$

$$I_\alpha = 100 - I_\beta \quad (4)$$

A Tescan Vega 3 scanning electron microscope (Brno, Czech Republic) made it possible to establish and analyze the structure of the purified and dried cellulose. The dimensions of the studied samples for electron microscopy were $20 \times 20 \times 10$ mm.

The water-holding capacity of the bacterial cellulose biofilm was determined by sieving. We soaked the biofilms in distilled water for 1 h. After removing them from the storage containers with tweezers, we put the biofilms in a sieve and shook it twice vigorously to remove any water remaining on the surface. The samples were weighed prior and after being dried to constant weight in a drying cabinet at $50 \pm 1^\circ\text{C}$. The water-holding capacity (WHC) was calculated as in [17]:

$$WHC = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \quad (5)$$

where m_0 is the initial mass, g; m_1 is the post-drying mass, g.

All experiments were carried out in five independent experiments with three parallel measurements in each. The results were presented as the sum of the mean value and the standard deviation.

Results and discussion

Optimal cultivation conditions are the key to successful bacterial cellulose production. They depend on the components of the nutrient medium that affect the properties of bacterial cellulose and thus define its further application. The traditional Hestrin-Schramm medium is expensive and, in some cases, ineffective in terms of yield and quality.

Bacterial cellulose absorbs more water than its alternatives, which indicates good prospects for new hydrogels and other polymers used in the food industry.

Figure 1 shows two types of bacterial cellulose obtained under static cultivation conditions before and after purification.

It takes bacterial cellulose three days to start to develop in the Hestrin-Schramm medium (Fig. 2). Its yield

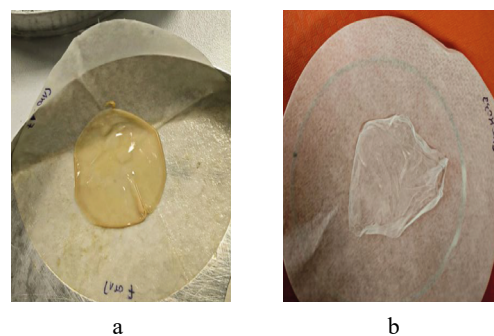


Figure 1. Bacterial cellulose biofilms obtained under static conditions: a – before purification, b – after purification and drying

Рисунок 1. Биопленки бактериальной целлюлозы, полученные в статических условиях: а – до очистки; б – после очистки и высушивания

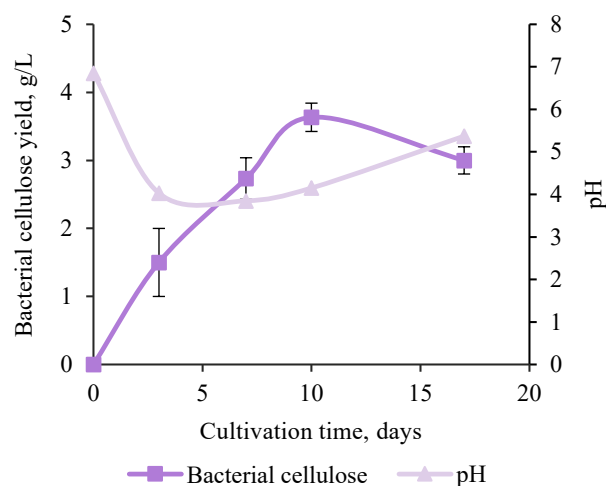


Figure 2. Effect of cultivation time on bacterial cellulose yield and pH of the medium

Рисунок 2. Изменение выхода бактериальной целлюлозы и pH среды в зависимости от продолжительности культивирования

is very low (1.5 g/L) because the pH of the medium is low due to the accumulation of secondary metabolites, e.g., acetic acid. As a result, the maximal yield in the Hestrin-Schramm medium occurred on day 10, when the pH of the medium fell down from 6.85 to 4.15.

We observed the yield of bacterial cellulose under static condition in the Hestrin-Schramm medium with different carbon sources (20.0 g/L) as the main substrate for 10 days (Fig. 3). The carbon sources included glucose, fructose, lactose, xylose, maltose, glycerin, sucrose, sorbitol, and ethanol.

Acetobacterium xylinum B-12429 proved able to use various carbon sources (2%) for growth and cellulose synthesis. The highest yield of 4.4 g/L bacterial cellulose was observed in the fructose medium. This monosaccharide triggered such an intense fermentation

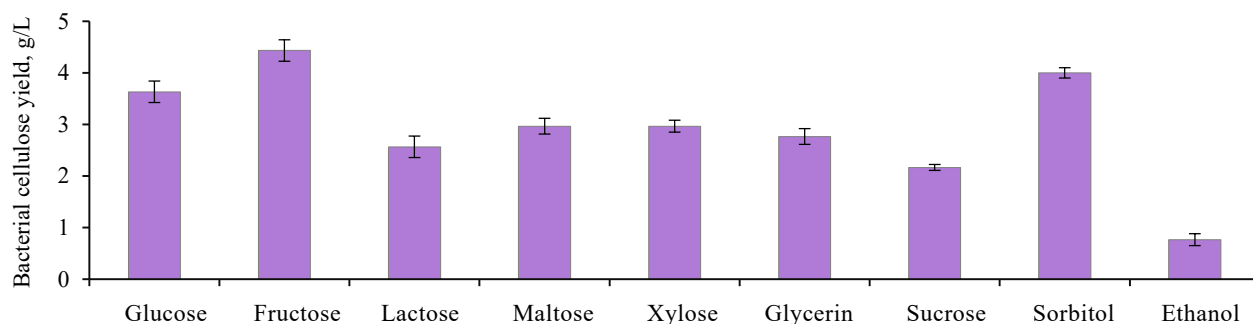
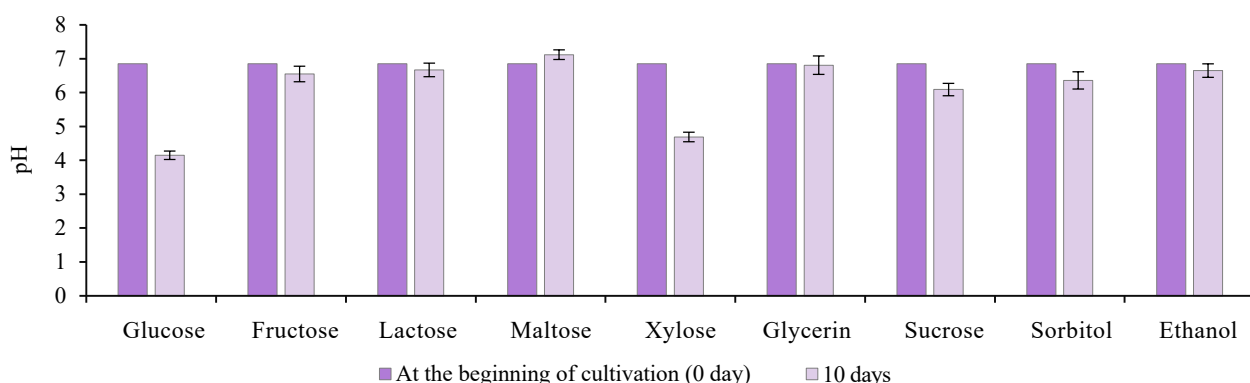


Figure 3. Effect of different carbon sources on bacterial cellulose yield over 10 days

Рисунок 3. Производство бактериальной целлюлозы при разных источниках углерода за 10 дней

Figure 4. pH of the cultivation medium of *Acetobacterium xylinum* B-12429 over 10 daysРисунок 4. Измерение pH среды культивирования штамма *Acetobacterium xylinum* B-12429 в течение 10 суток

due to the activity of phosphokinase, which inhibited the conversion of fructose-1-phosphate to fructose-1,6-bisphosphate [18].

The sorbitol sample also demonstrated a high yield of 4.0 g/L. Glucose yielded much less bacterial cellulose (3.60 g/L) due to the activity of gluconic acid, a by-product of glucose oxidation. The maltose and xylose substrates yielded a much lower amount (3.0 g/L), with lactose showing an even worse performance (2.6 g/L). Yet, these substances did have a certain substrate potential, although with a much lower efficiency.

In our study, glycerol and sucrose showed a rather low fermentation efficiency with yields of 2.8 g/L and 2.2 g/L, respectively. Mohammadkazemi *et al.* [19], however, obtained the highest bacterial cellulose yield from sucrose and mannitol.

Ethanol was responsible for the negligible yield of 0.8 g/L, which indicates its unsuitability as a carbon source for cellulose production under these particular conditions. Figure 4 illustrates the change in pH in the culture medium for different carbon sources over 10 days.

Glucose reduced the pH value from the initial 6.85 to 3.21, probably, due to the formation of organic acids. Maltose, glycerol, and fructose led to a small decrease in the pH value from the initial 6.85 to 6.75, 6.65, and

6.28, respectively. Perhaps, these carbon sources formed no gluconic acid. Lactose, xylose, and sorbitol could act as a substrate for glucose dehydrogenase, with a significant drop in pH from 6.85 to 3.85.

Table 1 summarizes the effect of inorganic and organic components on cellulose biomass yield.

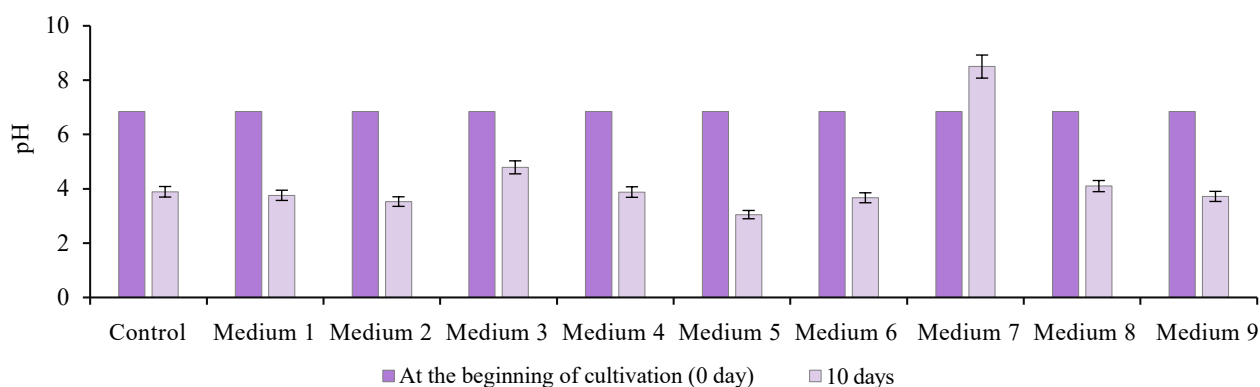
Other studies also reported the effect of various additives on bacterial cellulose production in the Hestrin-Schramm medium [8]. In this research, vitamins, ethanol, MgSO_4 , tartaric acid, and agar were able to boost the yield, which allowed us to identify them as stimulators of bacterial reproduction. The media with FeSO_4 , CaCO_3 , and ZnSO_4 demonstrated no bacterial growth and cellulose biosynthesis, which means they inhibited the growth of *A. xylinum* B-12429.

The highest yield belonged to Medium 9 with agar, Medium 4 with MgSO_4 , and Medium 2 with ascorbic acid, amounting to 5.04, 4.86, and 4.05 g/L, respectively. Rutin, ethanol, and tartaric acid (1%) did not increase the biomass of bacterial cellulose, compared to the control sample (3.60 g/L).

Vitamins, ethyl alcohol, and all mineral salts but CaCO_3 reduced pH in the medium from 6.85 to 3.05 during cultivation. Probably, when *A. xylinum* B-12429 consumed these substances, they developed more organic

Table 1. Cultivating *Acetobacterium xylinum* B-12429 on nutrient media with different compositionsТаблица 1. Культивирование штамма бактерий *Acetobacterium xylinum* B-12429 на питательных средах различного состава

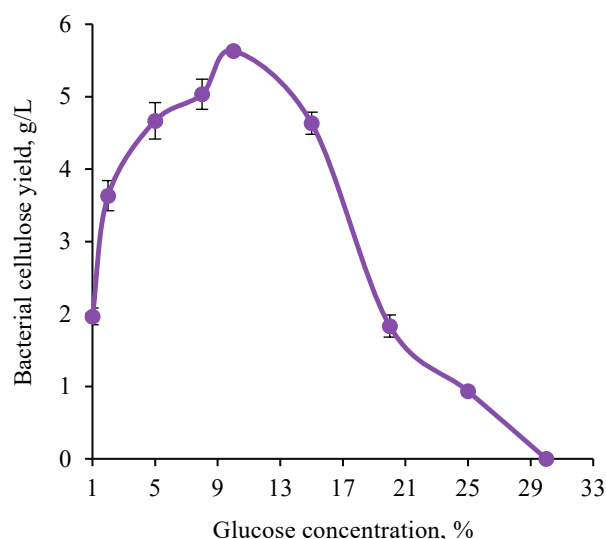
Sample	Composition	Cellulose yield, g/L
Control	Hestrin-Schramm	3.60 ± 0.18
Medium 1	Hestrin-Schramm + ethanol	3.34 ± 0.17
Medium 2	Hestrin-Schramm + ascorbic acid	4.05 ± 0.20
Medium 3	Hestrin-Schramm + rutin	0.84 ± 0.04
Medium 4	Hestrin-Schramm + MgSO ₄	4.86 ± 0.24
Medium 5	Hestrin-Schramm + tartaric acid	3.54 ± 0.18
Medium 6	Hestrin-Schramm + FeSO ₄	0
Medium 7	Hestrin-Schramm + CaCO ₃	0
Medium 8	Hestrin-Schramm + ZnSO ₄	0
Medium 9	Hestrin-Schramm + agar	5.04 ± 0.25

Figure 5. pH of different nutrient media with *Acetobacterium xylinum* B-12429 over 10 daysРисунок 5. Изменение pH культуральной жидкости при выращивании *Acetobacterium xylinum* B-12429 на различных вариантах питательных сред в течение 10 суток культивирования

acids as by-products, which inhibited their growth and, in turn, the yield of bacterial cellulose. The sample with CaCO₃ raised its pH up to 8.5. This effect could be caused by the lack of gluconic acid.

The cellulose fermentation profiles showed that the glucose concentration was important for the effective cultivation of *A. xylinum* B-12429 (Fig. 5). The highest cellulose yield (5.6 g/L) was achieved on day 10 of static cultivation. The lowest cellulose yield was observed both at the lowest glucose concentration (1%) and when it reached 10%. In this respect, our results were consistent with some previous research that observed the highest cellulose yield at 8% glucose [10]. Probably, the cellulose synthesis went down at ≤ 2% glucose because glucose was the only available source of carbon and energy in the medium. The low cellulose yield at ≥ 10.0% glucose might be due to high the osmotic pressure, low free water, or competitive inhibition caused by the excess substrate (Fig. 6).

The pH values went down as the glucose concentration increased, stabilizing at ~5.5 when glucose was > 15% (Fig. 7). As reported elsewhere, bacterial cellulose-producing strains can maintain the pH of the medium within 3.0–5.0 during the enzymatic process [8].

Figure 6. Effect of glucose concentration on bacterial glucose synthesis by *Acetobacter xylinum* B-12429 in Hestrin-Schramm medium during 10 days of cultivationРисунок 6. Влияние концентрации глюкозы на синтез бактериальной целлюлозы *Acetobacter xylinum* B-12429 на среде HS в течение 10 суток культивирования

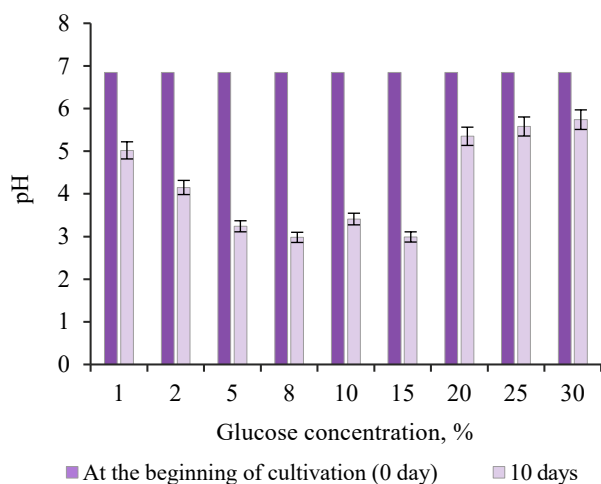


Figure 7. Effect of glucose concentration on pH of the culture medium with *Acetobacterium xylinum* B-12429 during 10 days

Рисунок 7. Изменение pH культуральной жидкости при выращивании *Acetobacterium xylinum* B-12429 на различных концентрациях глюкозы среды HS в течение 10 суток культивирования

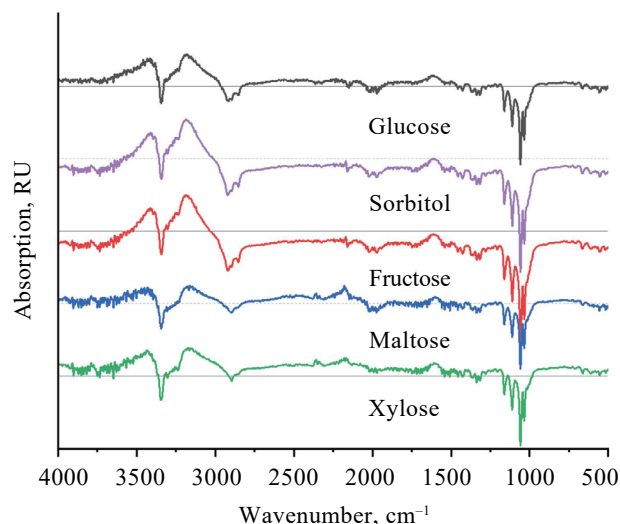


Figure 8. FTIR spectra of bacterial cellulose from different carbon sources

Рисунок 8. ИК спектры бактериальной целлюлозы, получаемой при разных источниках углерода

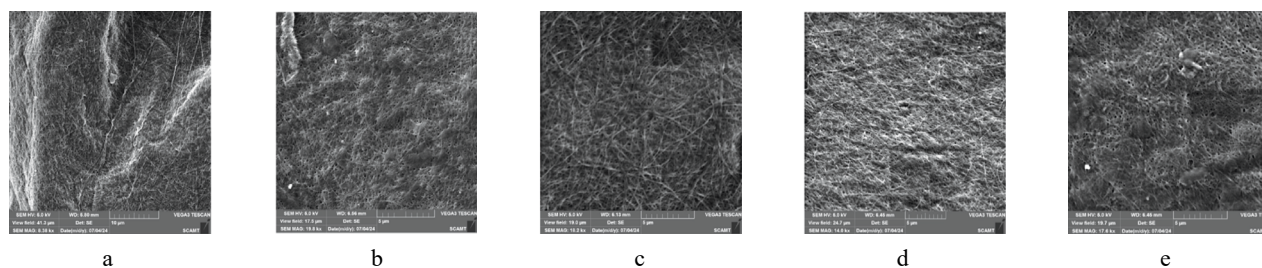


Figure 9. Scanning electron microscopy of bacterial cellulose obtained from different carbon sources: a – glucose; b – fructose; c – maltose; d – xylose; and e – sorbitol

Рисунок 9. Изображения бактериальной целлюлозы (СЭМ), полученной на различных источниках углерода: а – глюкоза; б – фруктоза; с – мальтоза; д – ксилоза; е – сорбит

To define the effects of glucose, fructose, maltose, xylose, and sorbitol on bacterial cellulose, we studied its structure using infrared spectroscopy and scanning electron microscopy (SEM). We also identified such physicochemical properties as water-holding capacity and crystallinity indices I_α and I_β of purified cellulose biofilm.

Figure 8 shows the results of infrared spectroscopy obtained from different carbon sources.

The infrared spectroscopy revealed no significant differences in the structure of the spectra across different carbon sources. Obviously, the use of different carbon substrates did affect the basic structure of the resulting cellulose.

In Figure 8, the strong absorption band at $3,444\text{ cm}^{-1}$ corresponded to the hydroxyl (OH) group. The absorption band that peaked at $2,918\text{ cm}^{-1}$ corresponded to C-H bond vibrations. The band at $1,058\text{ cm}^{-1}$ marked the stretching vibrations in the C-O-C structures. The

absorption band at $1,111\text{ cm}^{-1}$ corresponded to the glucopyranose stretch. The spectra were consistent with the data in [20, 21], which reported bands typical of cellulose in the FTIR spectra.

Figure 9 shows the scanning electron microscopy images of bacterial cellulose synthesized by *A. xylinum* B-12429 with various carbon sources.

The method of scanning electron microscopy made it possible to describe the structure of bacterial cellulose synthesized by *A. xylinum* B-12429 in media with different carbon sources. The images for all samples showed cellulose fibers with a distinctive and highly compact morphology, indicating a fine and uniform matrix structure typical of cellulose I. We detected no large pores, which means that all the carbon sources developed tightly interwoven fibrous structures rather than interstitial spaces. This compactness may have good implications for bacterial cellulose to be used as a biomaterial.

Indeed, the absence of porosity provides a number of advantages, including high resistance to enzymatic degradation and excellent mechanical properties, which indicates good prospects for the packaging industry.

Biopolymers and their physicochemical profiling are a popular research object since their physical and chemical properties define the application options, e.g., in pharmacy or food storage. These qualities often depend on the proper choice of carbon source to be used in the synthesis process. We measured the water-holding capacity and crystallinity indices I_α and I_β for bacterial cellulose obtained from glucose, fructose, xylose, maltose, and sorbitol (Table 2).

Water-holding capacity is an important indicator that determines the ability of a material to retain water. In our research, the water-holding capacity of bacterial cellulose depended on the carbon source. The bacterial cellulose obtained from glucose had a water-holding capacity of 63.57%. The highest water-holding capacity belonged to the sample obtained from xylose (79.02%), with similar rates observed for sorbitol (79.32%) and maltose (75.01%). These substrates formed more stable hydrophilic interactions due to their chemical structure. Such complex carbohydrates as maltose provided a lower water-holding capacity compared to simple monosaccharides. This discovery opens up new prospects for using sorbitol as a carbon source for bacterial cellulose with strong water-holding properties.

Crystallinity indices I_α and I_β characterize the order of cellulose macromolecules and their crystalline structure (Eqs 2–4). In our case, the crystallinity indices were approximately the same across the samples, which means that the carbon source had no effect on the crystallinity of bacterial cellulose. The biofilms obtained from different substrates demonstrated a fifty-fifty equilibrium ratio of forms 1 and 2 of cellulose I. The crystallinity of bacterial cellulose slightly depended on the carbon source, as confirmed by crystallinity indices I_α and I_β , which ranged from 49.980 to 50.020% for all samples, with a high degree of cellulose crystallinity regardless of the carbon source. Cellulose molecules indicated a stable structure and ordered organization, which indicated a better mechanical and thermodynamic quality of the final products.

Table 2. Physicochemical properties of bacterial cellulose from various carbon sources

Таблица 2. Характеристика образцов бактериальной целлюлозы из различных источников углерода

Carbon source	Water-holding capacity, %	Crystallinity index	I_α , %	I_β , %
Glucose	63.57	0.992	50.014	49.986
Fructose	70.69	0.989	50.020	49.980
Xylose	79.02	0.992	50.018	49.982
Maltose	75.01	0.991	50.020	49.980
Sorbitol	79.32	0.989	50.020	49.980

Conclusion

We studied the mechanisms of bacterial cellulose biosynthesis by *Acetobacterium xylinum* B-12429. This strain proved able to use various carbohydrates as carbon sources for cellulose synthesis. The cellulose yield depended on the carbon source. Monosaccharides, such as fructose and sorbitol, provided the highest yield while disaccharides and ethanol performed much worse.

The nutrient media and additives also affected the process of cellulose biosynthesis. Unlike iron and calcium, ascorbic acid and MgSO_4 were able to boost the cellulose production. When optimized properly, the nutrient media catalyzed the biosynthesis, thus opening prospects for industrial high-quality bacterial cellulose production. Carbon sources also affected the physicochemical profile of the resulting bacterial cellulose. The samples obtained from xylose and sorbitol exhibited the best water-holding properties, which renders them good prospects as part of hydrogels and artificial tissues used in medicine. The high crystallinity indices emphasized the structural quality and stability of biofilms obtained from all carbon sources considered in this study. Further research may reveal the exact effect of the above-mentioned properties on the functionality of bacterial cellulose in practical applications.

Contribution

A-G.A. Ali developed the research concept, designed the research, collected and analyzed the data, and drafted the manuscript. O.V. Kriger wrote the review, processed the illustrations, and proofread the manuscript. Both co-authors have agreed and approved of the final version and are equally responsible for its integrity, reliability, and plagiarism.

Conflict of interest

The authors declared no potential conflict of interest regarding the research, authorship, and / or publication of this article.

Критерии авторства

А-Г. А. Али – разработка концепции и дизайн исследования, сбор, анализ и интерпретация данных и материалов, подготовка и редактирование текста статьи. О. В. Кригер – сбор и анализ литературных данных, обработка иллюстраций, подготовка статьи к публикации. Все соавторы согласовали и утвердили окончательный вариант текста статьи и несут равную ответственность за его целостность, достоверность материалов и плагиат.

Конфликт интересов

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

References

1. Ul-Islam M, Ha JH, Khan T, Park JK. Effects of glucuronic acid oligomers on the production, structure and properties of bacterial cellulose. *Carbohydrate Polymers*. 2013;92(1):360–366. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.09.060>
2. Moran-Mirabal JM, Cranston ED. Cellulose nanotechnology on the rise. *Industrial Biotechnology*. 2015;11(1):14–15. <https://doi.org/10.1089/ind.2015.1501>
3. Ullah H, Santos HA, Khan T. Applications of bacterial cellulose in food, cosmetics and drug delivery. *Cellulose*. 2016;23:2291–2314. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-0986-y>
4. Park SU, Lee BK, Kim MS, Park KK, Sung WJ, et al. The possibility of microbial cellulose for dressing and scaffold materials. *International Wound Journal*. 2014;11(1):35–43. <https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2012.01035.x>
5. Almihiyawi RAH, Musazade E, Alhussany N, Zhang S, Chen H. Production and characterization of bacterial cellulose by *Rhizobium* sp. isolated from bean root. *Scientific Reports*. 2024;14:10848. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-61619-w>
6. Mohammad NH, Hammad AA, Nour SA, Askar AA, Gamal E. Optimization of bacterial cellulose production using Plackett-Burman and response surface methodology. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*. 2021;30(4):93–101. <https://doi.org/10.21608/ejmm.2021.197467>
7. Lin S-P, Liu C-T, Hsu K-D, Hung Y-T, Shih T-Y, et al. Production of bacterial cellulose with various additives in a PCS rotating disk bioreactor and its material property analysis. *Cellulose*. 2016;23:367–377. <https://doi.org/10.1007/S10570-015-0855-0>
8. Ali A-GA, Krieger OV. Production and application of bacterial cellulose. *Vestnik of Immanuel Kant Baltic Federal University*. 2025;(1):82–102. (In Russ.) [Али А-Г. А., Кригер О. В. Получение и применение бактериальной целлюлозы. Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. 2025. № 1. С. 82–102.] <https://doi.org/10.5922/vestniknat-2025-1-6>
9. Saavedra-Sanabria OL, Durán D, Cabezas J, Hernández I, Blanco-Tirado C, et al. Cellulose biosynthesis using simple sugars available in residual cacao mucilage exudate. *Carbohydrate Polymers*. 2021;274:118645. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118645>
10. Digel I, Akimbekov N, Rogachev E, Pogorelova N. Bacterial cellulose produced by *Medusomyces gisevii* on glucose and sucrose: biosynthesis and structural properties. *Cellulose*. 2023;30:11439–11453. <https://doi.org/10.1007/s10570-023-05592-z>
11. Abdelraof M, Hasanin MS, Farag MM, Ahmed HY. Green synthesis of bacterial cellulose/bioactive glass nanocomposites: Effect of glass nanoparticles on cellulose yield, biocompatibility and antimicrobial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;138:975–985. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.144>
12. Abol-Fotouh D, Hassan MA, Shokry H, Roig A, Azab MS, et al. Bacterial nanocellulose from agro-industrial wastes: Low-cost and enhanced production by *Komagataeibacter saccharivorans* MD1. *Scientific Reports*. 2020;10:3491. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60315-9>
13. Sutthiphakul T, Suwanposri A, Ochaikul D. Optimization of bacterial cellulose production from wastewater of noodle processing by *Komagataeibacter* sp. PAP1 and bio-cellulose paper production. *Walailak Journal of Science and Technology*. 2020;17(11):1241–1251. <https://doi.org/10.48048/wjst.2021.6508>
14. Khattak WA, Khan T, Ul-Islam M, Ullah MW, Khan S, et al. Production, characterization and biological features of bacterial cellulose from scum obtained during preparation of sugarcane jaggery (gur). *Journal of Food Science and Technology*. 2015;52(12):8343–8349. <https://doi.org/10.1007/S13197-015-1936-7>
15. Ciolacu D, Ciolacu F, Popa VI. Amorphous cellulose – Structure and characterization. *Cellulose Chemistry and Technology*. 2011;45(1):13–21.
16. Szymańska-Chargot M, Cybulska J, Zdunek A. Sensing the structural differences in cellulose from apple and bacterial cell wall materials by raman and FT-IR spectroscopy. *Sensors*. 2011;11(6):5543–5560. <https://doi.org/10.3390/s110605543>
17. Hanemann T, Szabó DV. Polymer-nanoparticle composites: From synthesis to modern applications. *Materials*. 2010;3(6):3468–3517. <https://doi.org/10.3390/ma3063468>
18. Liu M, Liu L, Jia S, Li S, Zou Y, et al. Complete genome analysis of *Gluconacetobacter xylinus* CGMCC 2955 for elucidating bacterial cellulose biosynthesis and metabolic regulation. *Scientific Reports*. 2018;8:6266. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24559-w>
19. Mohammadkazemi F, Azin M, Ashori A. Production of bacterial cellulose using different carbon sources and culture media. *Carbohydrate Polymers*. 2015;117:518–523. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.008>
20. Casaburi A, Rojo ÚM, Cerrutti P, Vázquez A, Foresti ML. Carboxymethyl cellulose with tailored degree of substitution obtained from bacterial cellulose. *Food Hydrocolloids*. 2018;75:147–156. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.002>
21. Gladysheva EK. Investigation of the structure and chemical structure of bacterial cellulose. *Polzunovskiy Vestnik*. 2015;(4–2):100–103. (In Russ.) [Гладышева Е. К. Исследование структуры и химического строения бактериальной целлюлозы. Ползуновский вестник. 2015. № 4–2. С. 100–103.] <https://elibrary.ru/VMDLLL>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2595>
<https://elibrary.ru/BLIWNU>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Пищевые пленки на основе желатина из кожи холодноводных рыб и альгината натрия: разработка и характеристика



Д. С. Колотова*^{ID}, В. В. Бордиян^{ID},
Е. В. Боровинская, С. О. Воропаева^{ID}

Мурманский арктический университет^{ROR}, Мурманск, Россия

Поступила в редакцию: 26.03.2025

Принята после рецензирования: 06.05.2025

Принята к публикации: 03.06.2025

*Д. С. Колотова: kolotovads@mauniver.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-1700-2323>

В. В. Бордиян: <https://orcid.org/0009-0004-5680-8882>

С. О. Воропаева: <https://orcid.org/0009-0008-0230-2690>

© Д. С. Колотова, В. В. Бордиян, Е. В. Боровинская,
С. О. Воропаева, 2025



Аннотация.

Негативное влияние на окружающую среду синтетических упаковочных материалов для хранения пищевых продуктов стимулирует разработку биоразлагаемых альтернатив из возобновляемого природного сырья. Одним из перспективных направлений является разработка пищевых пленок на основе комбинаций желатина из отходов рыбного промысла и альгината натрия из морских водорослей, что позволяет сочетать экологические преимущества с функциональными характеристиками, необходимыми для применения в пищевой промышленности. Целью данной работы являлись разработка и составление физико-химической характеристики пищевых пленок на основе желатина из кожи холодноводных рыб и альгината натрия в зависимости от их соотношения, а также подбор типа и концентрации пластификатора для дальнейшего применения в качестве упаковочного материала для безопасного и пролонгированного хранения пищевых продуктов.

Для создания пищевых пленок использовались смеси желатина из кожи холодноводных рыб и альгината натрия из бурых водорослей с добавками глицерина и сорбитола в качестве пластификаторов. Варьировали содержание рыбного желатина и альгината натрия, а также пластификаторов. У полученных пленок определяли толщину, содержание влаги, паропрооницаемость, влагопоглощение, прочность на разрыв и гибкость, а также термические свойства. Для анализа структуры, свойств и термической устойчивости применяли оптическую микроскопию, ИК-спектроскопию и дифференциальную сканирующую калориметрию. Полученные данные подвергались статистической обработке с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Установлено оптимальное соотношение компонентов в системе, обеспечивающее формирование пленок с улучшенными механическими и барьерными характеристиками, включая сниженную гигроскопичность и паропрооницаемость, а также высокие температуры плавления (135–138 °С). В случае использования в качестве пластификатора сорбитола пленки характеризовались более однородной структурой и, как следствие, более низкими значениями паропрооницаемости (829–1122 г/м²) и влагопоглощения (не более 98 %), а также более высокой прочностью при разрыве. Введение глицерина в состав пленок способствует повышению их пластифицирующих характеристик, однако сопровождается ростом паропрооницаемости (1572–1895 г/м²) и влагопоглощения (114–179 %).

Установленные закономерности и полученные экспериментальные данные могут послужить основой для управления свойствами биополимерных композиций посредством варьирования природы пластификаторов, концентрации и соотношения компонентов в системе, что позволит разрабатывать пищевые пленки с улучшенными механическими характеристиками и пониженной гигроскопичностью.

Ключевые слова. Биоразлагаемые пищевые пленки, хранение, рыбный желатин, альгинат натрия, ИК-спектроскопия, дифференциальная сканирующая калориметрия

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23-73-01233.

Для цитирования: Колотова Д. С., Бордиян В. В., Боровинская Е. В., Воропаева С. О. Пищевые пленки на основе желатина из кожи холодноводных рыб и альгината натрия: разработка и характеристика. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 567–580. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2595>

Edible Gelatin Films from Cold Water Fish Skin and Sodium Alginate



Daria S. Kolotova*, Vlada V. Bordiyan, Ekaterina V. Borovinskaya, Svetlana O. Voropaeva

Murmansk Arctic University, Murmansk, Russia

Received: 26.03.2025

Revised: 06.05.2025

Accepted: 03.06.2025

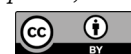
Daria S. Kolotova: kolotovads@mauniver.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-1700-2323>

Vlada V. Bordiyan: <https://orcid.org/0009-0004-5680-8882>

Svetlana O. Voropaeva: <https://orcid.org/0009-0008-0230-2690>

© D.S. Kolotova, V.V. Bordiyan, E.V. Borovinskaya, S.O. Voropaeva, 2025



Abstract.

Synthetic food packaging remains a looming environmental hazard. Biodegradable alternatives from renewable natural raw materials may be a solution to this problem. Edible packaging films can be produced from fish waste gelatin and seaweed sodium alginate. They combine environmental benefits with the functional characteristics required by the food industry. This article introduces a new environmentally friendly packaging film and its physicochemical profiles depending on the ratio of cold-water fish waste and sodium alginate. The experiment also included selecting the optimal type and concentration of plasticizer for safe and long food storage. The experimental films consisted of different mixes of cold-water fish skin gelatin, brown algae sodium alginate, and glycerol or sorbitol. The films were tested for thickness, moisture content, vapor permeability, moisture absorption, tensile strength, flexibility, and thermal properties. Optical microscopy, IR spectroscopy, and differential scanning calorimetry made it possible to analyze the structure, physicochemical properties, and thermal stability. The statistical processing relied on the Student's *t*-test method. An optimal ratio of components yielded films with improved mechanical and barrier properties, low hygroscopicity, low vapor permeability, and high melting temperatures (135–138 °C). The samples with sorbitol as plasticizer demonstrated a more uniform structure, resulting in low vapor permeability (829–1,122 g/m²), reduced moisture absorption (≤ 98%), and high tensile strength. The samples with glycerol had better plasticizing properties, but higher vapor permeability (1,572–1,895 g/m²) and moisture absorption (114–179%).

The established patterns may help to control the properties of industrial biopolymer compositions by adjusting the type of plasticizer and the concentration and ratio of components to obtain novel food films with improved mechanical characteristics and low hygroscopicity.

Keywords. Biodegradable edible films, storage, fish gelatin, sodium alginate, IR spectroscopy, differential scanning calorimetry

Funding. The research was supported by the Russian Science Foundation, project no. 23-73-01233.

For citation: Kolotova DS, Bordiyan VV, Borovinskaya EV, Voropaeva SO. Edible Gelatin Films from Cold Water Fish Skin and Sodium Alginate. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):567–580. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2595>

Введение

В последние годы проблема использования традиционных синтетических упаковочных материалов для хранения пищевых продуктов становится все более острой в связи с их негативным влиянием на окружающую среду. Для ее решения активно стимулируется развитие исследований в области создания биоразлагаемых упаковочных материалов на основе возобновляемых природных ресурсов [1–4].

Разработка биоразлагаемых пленок на основе комбинаций белков и полисахаридов привлекает значительное внимание благодаря созданию материалов с улуч-

шенными функциональными характеристиками [5, 6]. Данный вид пленок на основе биополимеров играет решающую роль в снижении негативного воздействия небiorазлагаемых пластиковых отходов на окружающую среду [7]. Наиболее распространенными биополимерами, которые используются при создании биоразлагаемых пленок, являются полисахариды и белки: хитозан [8–12], карбоксиметилцеллюлоза [13–15], крахмал [16–17], соевый белок [18], молочные белки, такие как казеин и сывороточный альбумин [19], а также желатин [20–23]. Исследования показывают, что такие бикомпонентные системы обладают синергети-

ческим эффектом: белки обеспечивают механическую прочность, а полисахариды – барьерные свойства и биосовместимость.

Одним из перспективных направлений является разработка пленок на основе рыбного желатина [24]. Данный вид желатина, получаемый из отходов рыбного промысла, представляет собой возобновляемый источник белка с хорошими пленкообразующими свойствами [25, 26]. Желатин получил наиболее широкое распространение благодаря хорошим функциональным свойствам и возможности выступать в качестве внешнего барьера для защиты пищевых продуктов от высыхания, порчи, воздействия кислорода и света [27]. Пленки, состоящие из этого материала, обладают хорошими механическими свойствами, но оказываются чувствительны к влаге и обладают низкими барьерными свойствами по отношению к водяному пару [28]. Это существенно ограничивает его использование для хранения пищевых продуктов с высоким содержанием влаги, поскольку пленки могут растворяться, набухать или разрушаться при контакте с водой. Современные тенденции в разработке биоразлагаемых материалов для упаковки пищевых продуктов направлены на оптимизацию свойств желатиновых пленок путем введения различных модификаторов.

Первый тип модификаторов – это вещества, которые добавляют к биополимерным материалам для регулирования их функциональных свойств за счет повышения гибкости, эластичности, жесткости и механических свойств [22]. В работах [29, 30] показано, что полиолы особенно эффективны для пластификации гидрофильных полимеров. По этой причине многие недавние исследования направлены на использование полиолов, таких как глицерин [31], сорбит [32], маннит [33], и ксилит [34]. Таким образом, добавление пластификаторов направлено на устранение хрупкости пленок, на повышение их гибкости и прочности, а также на предотвращение растрескивания пленочного материала во время упаковки и транспортировки. Тип, состав пластификатора и его совместимость с полимером могут влиять на взаимодействие между пластификатором и полимером, в том числе на его способность притягивать воду к пластифицированным белковым пленкам [35]. Пластификаторы, характеризующиеся небольшими размерами молекул, высокой полярностью, наличием большого количества полярных групп на молекулу, и большим расстоянием между полярными группами внутри молекулы, как правило, оказывают более сильное пластифицирующее воздействие на полимерную систему. Выбор пластификатора для конкретной системы обычно основывается на его совместимости, стабильности и желаемых физических свойствах пленок [36].

Также в качестве модификаторов желатиновых пленок могут выступать полисахариды, поскольку они нетоксичны, съедобны и широко распространены в природе [37]. В них присутствуют свободные гидрок-

сильные группы, которые инициируют образование водородных связей с добавленными активными веществами. Покрытия, содержащие полисахариды, обладают хорошими барьерными свойствами по отношению к кислороду, а также отличными прочностными характеристиками. Добавление дополнительных антимикробных агентов и антиоксидантов в упаковочные материалы может увеличить срок хранения пищевых продуктов [38]. В частности, хитозан продемонстрировал хорошие противомикробные и противогрибковые свойства, и может использоваться в качестве противомикробного агента совместно с другими пленкообразующими биополимерами [39]. Пуллулан, геллан и ксантан представляют собой полисахариды микробного происхождения, продуцируемые высокоселективными бактериями. В работе S. A. A. Mohamed *et al.* [40] показано, что пленки и покрытия на основе таких полисахаридов также увеличивают срок годности пищевых продуктов. Альгинат, агар и каррагинан являются природными полисахаридами морского происхождения. Каррагинан из красных водорослей может применяться при создании пленок для хранения мяса, птицы и рыбы [37]. Авторами [39] установлено, что альгинат, извлеченный из бурых морских водорослей, проявил низкие водобарьерные свойства. Однако при добавлении ионов кальция улучшились общие водобарьерные свойства пленки, благодаря чему она стала нерастворимой в воде.

L. Dou *et al.* [41] успешно изготовили пленки на основе желатина с альгинатом натрия, содержащие чайные полифенолы в качестве сшивающих агентов и антиоксидантов. Пленки, модифицированные чайными полифенолами, показали лучшую механическую, физическую и антиоксидантную активность, чем те, которые без них. Добавление данных полифенолов приводило к межмолекулярному взаимодействию, что подтверждалось данными ИК-Фурье спектроскопии. Кроме того, они обладали хорошей антиоксидантной эффективностью, что способствовало предотвращению окисления липидов.

В работе [42] показано, что применение пленки на основе желатина и альгината натрия, обогащенной экстрактом кожуры свеклы для упаковки сырого говяжьего фарша привело к повышению качественных показателей при хранении продукта при температуре 4 °С. Включение экстракта кожуры свеклы улучшило механические, физические и биологические характеристики. Обогащенные пленки с содержанием экстракта кожуры свеклы отличались высокой эффективностью в отношении замедления окисления белков и липидов. Кроме того, они стабилизировали цвет мяса и замедлили рост микробов, тем самым продлив срок годности мяса.

Авторы исследования [43] разработали композитную пленку с применением желатина и альгината натрия как матрицы и экстракта зеленого чая в качестве сшивающего агента и активного ингредиента.

Смешанная пленка обладала устойчивостью к действию УФ-излучения, высокой механической прочностью, влагостойкостью и термостойкостью. Высокая антибактериальная активность пленки обусловлена медленным высвобождением экстракта зеленого чая из композитной пленки. Она увеличила сроки хранения продуктов до 7 дней, демонстрируя высокий потенциал ее использования в области упаковки пищевых продуктов. Таким образом, альгинат натрия из бурых водорослей характеризуется хорошими барьерными свойствами [44].

Следует отметить, что разработка биоразлагаемых пленок на основе рыбного желатина и альгината натрия является перспективным направлением, сочетающим экологические преимущества с функциональными характеристиками, необходимыми для применения в пищевой промышленности. Кроме того, данные биополимеры решают проблему рационального потребления морских биоресурсов.

Цель работы – разработка и составление физико-химической характеристики пищевых пленок на основе желатина из кожи холодноводных рыб и альгината натрия в зависимости от их соотношения, а также подбор типа и концентрации пластификатора для дальнейшего применения в качестве упаковочного материала для безопасного и пролонгированного хранения пищевых продуктов.

Объекты и методы исследования

Важным критерием при создании пищевых пленок является безопасность и биоразлагаемость компонентов, входящих в их состав. В качестве основы для получения пленок использовали желатин из кожи холодноводных рыб (G 7041, Sigma, Канада) и альгинат натрия из бурых водорослей (A2033, Sigma, Великобритания). Значения средневязкостной молекулярной массы биополимеров – 130 и 507 кДа соответственно. Отдельно подготовили растворы желатина и альгината натрия – для этого предварительно дали им набухнуть при комнатной температуре в течение 1 и 5 ч соответственно, после чего вещества растворяли в воде при постоянном перемешивании при температурах 25 и 45 °C соответственно.

В качестве пластификаторов применяли компоненты, полученные из сырья растительного происхождения: глицерин дистиллированный пищевой ПК-94 (E422, «Glycerine.ru» LTD, Россия) с содержанием основного вещества не менее 99 % и сорбитол пищевой (E420, Shandong Lujian Biological Technology Co. Ltd., Китай) с содержанием основного вещества не менее 96 %. Глицерин и сорбитол растворяли в дистиллированной воде при комнатной температуре и постоянном перемешивании.

Приготовление пленок. Растворы альгината натрия, желатина и пластификаторов необходимого объема добавляли в химические стаканы и тщательно перемешивали при помощи верхнеприводной мешалки при температуре 45 °C. Содержание желатина в смеси

составило 4, 3 и 2 масс. %, содержание пластификатора – 10 и 20 масс. %. Массовое соотношение альгината натрия и желатина составило 0,5; 0,7 и 1,0 г/г. Обозначение образцов с различным соотношением компонентов приведено в таблице 1. Готовые смеси помещали в эксикатор и проводили дегазацию под вакуумом в течение 5 ч для удаления пузырьков воздуха. Затем биополимерные смеси массой $4,0 \pm 0,2$ г заливали в силиконовые формы квадратной ($4,5 \times 4,5$ см) и овальной ($d = 5$ см) формы глубиной 3 мм и помещали в сушильный шкаф на 12 ч при температуре $45,0 \pm 0,1$ °C. Пленки аккуратно извлекали из силиконовых форм и хранили при комнатной температуре в темном и сухом месте.

Толщину готовых пленок вычисляли в 10 различных точках при помощи цифрового микрометра Rexusbeti (Китай) с погрешностью измерений 0,001 мм и рассчитывали среднее значение для каждого состава.

Содержание влаги определяли путем сушки образцов пленок в сушильном шкафу при 105 °C до постоянной массы. Содержание влаги (W , %) рассчитывали по формуле:

$$W = \frac{m_1 - m_0}{m_0 - m} \times 100 \quad (1)$$

Таблица 1. Обозначение и состав образцов

Table 1. Sample number and composition

№ образца	Содержание желатина, масс. %	Массовое соотношение альгината натрия и желатина, г/г	Пластификатор, масс. %	
			Сорбитол	Глицерин
1	4	0,5	10	–
2		0,7		
3		1,0		
4		0,5	–	10
5		0,7		
6		1,0		
7	3	0,5	10	–
8		0,7		
9		1,0		
10		0,5	–	10
11		0,7		
12		1,0		
13	2	0,5	10	–
14		0,7		
15		1,0		
16		0,5	–	10
17		0,7		
18		1,0		
19	2	0,5	20	–
20		0,7		
21		1,0		
22		0,5	–	20
23		0,7		
24		1,0		

где m – масса пустого бюкса с крышкой, г; m_1 – масса бюкса с крышкой и образцом, г; m_0 – масса бюкса с крышкой и образцом после сушки, г.

Механические испытания пленок на разрыв проводили с использованием испытательной машины ZP-500, оснащенной динамометром с предельной нагрузкой 500 Н и электронным датчиком хода (рис. 1).

Для испытаний выбрали образцы пленок размером 1,5 см в ширину и 4,5 см в длину. Исследование прочностных свойств пленок проводили в соответствии с ГОСТ Р 35226-2008 «Полотна нетканые. Методы определения прочности», выполняя три параллельных испытания. Для определения гибкости и хрупкости пленки сгибали пополам. Если она легко сгибалась пополам, результат испытания обозначали как «+» в графе «гибкость», если ломалась или крошилась, то «+» в графе «хрупкость».

Влагопоглощение пленок измеряли путем выдерживания высушенных образцов в эксикаторе со 100 % влажностью в течение 96 ч при температуре 25 °С с последующим взвешиванием. Влагопоглощение (X , %) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{m_w}{m_0} \times 100 \quad (2)$$

где m_w – масса влаги, поглощенной образцом через время t , г; m_0 – масса высушенной пленки, г.

Паропроницаемость пленок исследовали гравиметрическим методом, основанном на определении количества водяного пара, проходящего через материал, в соответствии с ГОСТ 21472-81 «Материалы листовые. Гравиметрический метод анализа». Для этого образцы пленок закрепляли на горлышках пробирок объемом 4 мл и диаметром 1,5 см, в которые предва-

рительно помещали по 1 мл дистиллированной воды. Взвешивали пробирки с водой и пленками, после чего помещали в эксикатор и выдерживали при температуре 25 °С в течение 96 ч. Взвешивание пробирок проводили через 3, 24, 48 и 96 ч. Паропроницаемость пленок (VP , г/м²) рассчитывали по формуле:

$$VP = \frac{10 \times \Delta m}{S} \quad (3)$$

где Δm – изменение массы пробирки за время t , г; S – испытываемая площадь образца, м².

Поверхность пленок исследовали методом оптической микроскопии с использованием микроскопа CX43 (Olympus, Япония) при 10-кратном увеличении в темном поле.

Инфракрасные спектры. Спектры пропускания пленок регистрировали с использованием инфракрасного спектрометра с Фурье-преобразованием ФСМ 2202 (Инфраспек, Россия) в диапазоне частот 4000–600 см⁻¹ (количество сканирований – 50) с разрешением 4 см⁻¹. Образцы пленок измельчали и смешивали с KBr в соотношении 1/15 (масса образца / масса KBr), высушивали при температуре 60 °С в течение суток для удаления влаги, после чего готовили таблетки с использованием гидравлического пресса. В качестве образца сравнения использовали таблетки, изготовленные из чистого KBr. Проводили сравнение полученных спектров пленок со спектрами, полученными для чистых образцов рыбного желатина и альгината натрия.

Термический анализ. Термические свойства пленок исследовали методом дифференциальной сканирующей калориметрии посредством дифференциального сканирующего калориметра DSC 214 Polyma (Netzsch GmbH, Германия), оснащенным сенсором Corona (термопара Е-типа) и системой охлаждения жидким азотом. Перед измерениями прибор калибровали по пяти стандартным материалам в алюминиевых тиглях с проколотой крышкой (C₁₀H₁₆, In, Sn, Bi, Zn) в соответствии со стандартом ASTM E967–18. Образец пленки массой 11–12 мг вырезали по форме тигля, плотно укладывали в алюминиевый тигель с проколотой крышкой. В качестве образца сравнения использовали аналогичный пустой тигель. Образцы исследовали в токе азота (скорость подачи – 25 мл/мин) по следующей программе: начало при 30 °С; охлаждение до –100 °С со скоростью 10 °С/мин; нагрев до 150 °С со скоростью 10 °С/мин; повтор цикла охлаждения до –100 °С и нагрева до 150 °С со скоростью 10 °С/мин. Погрешность измерения энтальпии составляет менее 1 % от измеренного значения.

Обработка результатов. Статистическую обработку данных проводили в программной среде Microsoft Office с использованием t -критерия Стьюдента при доверительной вероятности $P = 95$ %. Полученные значения выражали как среднее значение трех измерений со стандартным отклонением.



Рисунок 1. Образец пленки, подготовленный к испытанию на растяжение и разрыв с использованием испытательной машины ZP-500

Figure 1. Film sample prepared for tensile and tear testing in a ZP-500 tester

Результаты и их обсуждение

Органолептические свойства пленок. Внешний вид готовых пленок представлен на рисунке 2. Пленки представляют собой однородные прозрачные глянцевые покрытия с желтоватым оттенком различной интенсивности в зависимости от концентрации альгината натрия и типа пластификатора.

Поскольку толщина пленок во многом определяет их механическую прочность, паропроницаемость и прозрачность, были определены значения толщины изготовленных образцов (табл. 2). При содержании пла-

стификатора 10 масс. % их толщина составляет около 0,2 мм для всех составов, увеличиваясь примерно в 1,5–2 раза (до 0,3–0,4 мм) при содержании пластификатора 20 масс. %. Показатель влажности в пленках на основе сорбитола варьировался от 3,1 до 5,6 %, что существенно ниже значений, полученных для пленок на основе глицерина, которые лежали в диапазоне от 9,8 до 22,5 % (табл. 2). Такое различие может быть связано с более гидрофильной природой глицерина, которая увеличила сродство пленок к воде и ухудшила их гигроскопические характеристики.

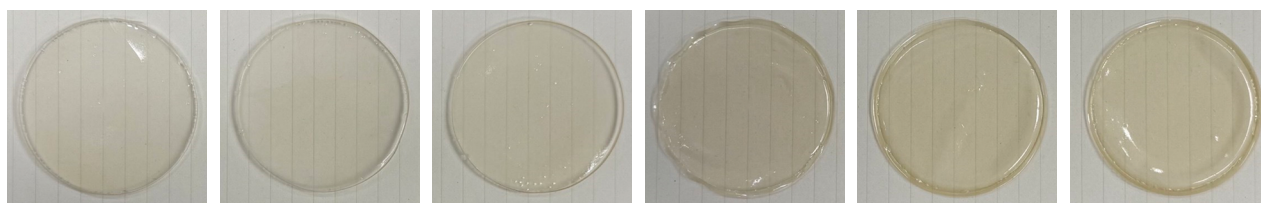


Рисунок 2. Внешний вид 6 образцов пленок

Figure 2. Appearance of six experimental samples

Таблица 2. Содержание влаги и толщина пленок

Table 2. Moisture content and thickness

№ образца	Состав	Содержание влаги, %	Толщина пленки, мм
1	4 % РЖ + 2 % АН + 10 % С	5,1 ± 0,3	0,19 ± 0,03
2	4 % РЖ + 2,8 % АН + 10 % С	5,3 ± 0,2	0,21 ± 0,02
3	4 % РЖ + 4 % АН + 10 % С	5,6 ± 0,2	0,29 ± 0,04
4	4 % РЖ + 2 % АН + 10 % Г	12,2 ± 0,5	0,21 ± 0,02
5	4 % РЖ + 2,8 % АН + 10 % Г	14,9 ± 0,5	0,23 ± 0,02
6	4 % РЖ + 4 % АН + 10 % Г	9,8 ± 0,5	0,28 ± 0,02
7	3 % РЖ + 1,5 % АН + 10 % С	4,2 ± 0,3	0,22 ± 0,02
8	3 % РЖ + 2,1 % АН + 10 % С	4,6 ± 0,3	0,21 ± 0,01
9	3 % РЖ + 3 % АН + 10 % С	5,5 ± 0,2	0,20 ± 0,01
10	3 % РЖ + 1,5 % АН + 10 % Г	14,4 ± 0,4	0,14 ± 0,02
11	3 % РЖ + 2,1 % АН + 10 % Г	12,5 ± 0,5	0,17 ± 0,02
12	3 % РЖ + 3 % АН + 10 % Г	10,1 ± 0,5	0,24 ± 0,02
13	2 % РЖ + 1 % АН + 10 % С	4,2 ± 0,3	0,19 ± 0,01
14	2 % РЖ + 1,4 % АН + 10 % С	4,1 ± 0,2	0,19 ± 0,01
15	2 % РЖ + 2 % АН + 10 % С	4,9 ± 0,3	0,20 ± 0,01
16	2 % РЖ + 1 % АН + 10 % Г	9,6 ± 0,5	0,11 ± 0,02
17	2 % РЖ + 1,4 % АН + 10 % Г	22,5 ± 0,6	0,12 ± 0,02
18	2 % РЖ + 2 % АН + 10 % Г	20,3 ± 0,5	0,21 ± 0,03
19	2 % РЖ + 1 % АН + 20 % С	3,1 ± 0,3	0,34 ± 0,04
20	2 % РЖ + 1,4 % АН + 20 % С	3,3 ± 0,2	0,38 ± 0,02
21	2 % РЖ + 2 % АН + 20 % С	3,9 ± 0,3	0,38 ± 0,02
22	2 % РЖ + 1 % АН + 20 % Г	10,5 ± 0,5	–
23	2 % РЖ + 1,4 % АН + 20 % Г	12,5 ± 0,5	–
24	2 % РЖ + 2 % АН + 20 % Г	19,7 ± 0,6	0,32 ± 0,02

Примечание: РЖ – рыбный желатин, АН – альгинат натрия, С – сорбитол, Г – глицерин. Все данные представлены как среднее значение трех повторных экспериментов ± стандартное отклонение при доверительной вероятности $P = 95\%$. Средние значения в столбцах не имеют значимых различий ($p > 0,05$).

Note: РЖ – fish gelatin, АН – sodium alginate, С – sorbitol, Г – glycerol. The data are represented as a mean of three experiments with standard deviation at a confidence level of $P = 95\%$. The mean values in the columns have no significant differences ($p > 0,05$).

Механические свойства пленок. Значения прочности на разрыв и удлинения при разрыве являются важными характеристиками упаковочных материалов для пищевых продуктов и влияют на способность пленок сопротивляться внешнему воздействию и сохранять целостность и барьерные свойства при транспортировке и хранении пищевых продуктов.

Результаты испытаний механической прочности образцов приведены в таблице 3. Установлено, что пленки, в состав которых входил сорбитол, характеризовались меньшими значениями удлинения при разрыве, т. е. пластичностью, и большим пределом прочности, по сравнению с теми, которые получили при помощи глицерина. Образцы пленок, пластифицированные глицерином, обладали более высокой пластичностью и растяжимостью. Молекулы глицерина характеризуются небольшим размером, они легче проникают между полимерными цепями, ослабляя взаимодействие между полимерными материалами, увеличивая гибкость и растяжимость пленок [45].

Увеличение содержания пластификатора с 10 до 20 % ухудшало механические свойства пленок: сорбитол делал их более хрупкими, а глицерин – слишком мягкими для испытаний на разрыв. С ростом массового соотношения альгинат натрия и желатина во всех случаях наблюдалось увеличение предела прочности и удлинения при разрыве были получены для образцов с массовым соотношением альгината натрия и желатина – 1,0 г/г. Уменьшение количества желатина в смесях с 4 до 2 % приводило к ухудшению прочностных свойств. Таким образом, наиболее прочные и пластичные образцы пленок были получены при: содержание желатина – 4 %, массовое соотношение альгината натрия и желатина – 1,0 г/г, пластификатор – 10 %.

Паропроницаемость и влагопоглощение. Исследована паропроницаемость пленок гравиметрическим методом, основанном на определении количества водяного пара, проходящего через материал. Динамика паропроницаемости приведена на рисунке 3.

Установлено, что образцы с сорбитолом отличались более низкой паропроницаемостью: этот показатель, измеренный через 24 и 96 ч, варьировался от 120 до 270 г/м² и от 829 до 1122 г/м², соответственно. Для пленок с глицерином данные показатели изменялись в диапазоне 357–560 и 1572–1895 г/м² за 24 и 96 ч соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о том, что пленки на основе глицерина характеризовались более высокой степенью аэрации и пористостью структуры. Аналогичные выводы сделаны в ряде работ [46–48], где установлено, что сорбитол придавал пленкам меньшую паропроницаемость, большую прочность и меньшую эластичность, по сравнению с глицерином. При этом увеличение содержания пластификатора с 10 до 20 % и массового соотношения биополимеров от 0,5 до 1,0 г/г желатина не оказывало существенного влияния на показатели паро-

проницаемости, что может быть связано с насыщением пластифицированной матрицы водой и практически постоянным потоком проходящего водяного пара [49]. Для пищевых пленок наиболее предпочтительны низкие показатели пропускаемости водяного пара, необходимые для обеспечения безопасного и длительного хранения пищевых продуктов [50].

Исследовано влагопоглощение образцов в условиях 100 % влажности в течение 96 ч (рис. 4). Пленки, содержащие сорбитол, обладали лучшими показателями, и влагопоглощение не превышало 98 %, в то время как для образцов, содержащих в качестве пластификатора глицерин, данный показатель варьировался в диапазоне от 114 до 176 %. Наблюдаемые различия могут быть связаны с более высокой гидрофильностью глицерина: он легче взаимодействует с водой посредством водородных связей. Кроме того, глицерин, из-за меньшего размера частиц, обладает значительной способностью взаимодействовать с цепочками

Таблица 3. Механические свойства пленок

Table 3. Mechanical properties

№ образца	Прочность на разрыв, МПа	Удлинение при разрыве, мм	Гибкость	Хрупкость
1	13,6 ± 0,5	2,6 ± 0,2	+	–
2	17,1 ± 0,4	5,2 ± 0,2	+	–
3	25,7 ± 0,4	9,1 ± 0,1	+	–
4	2,1 ± 0,5	28,6 ± 0,3	+	–
5	3,9 ± 0,5	20,2 ± 0,4	+	–
6	9,1 ± 0,5	14,2 ± 0,4	+	–
7	3,3 ± 0,4	0,4 ± 0,2	–	+
8	10,7 ± 0,3	3,6 ± 0,2	+	–
9	24,8 ± 0,2	4,8 ± 0,2	+	–
10	0,6 ± 0,3	47,6 ± 0,5	+	–
11	2,5 ± 0,3	15,8 ± 0,4	+	–
12	5,2 ± 0,4	24,2 ± 0,2	+	–
13	5,3 ± 0,3	0,1 ± 0,2	–	+
14	3,7 ± 0,3	0,3 ± 0,2	–	+
15	16,9 ± 0,2	0,5 ± 0,2	–	+
16	–	55,2 ± 0,5	+	–
17	0,8 ± 0,3	51,6 ± 0,5	+	–
18	1,0 ± 0,2	17,6 ± 0,2	+	–
19	7,2 ± 0,3	0,2 ± 0,1	–	+
20	9,7 ± 0,4	0,9 ± 0,2	–	+
21	17,4 ± 0,5	0,6 ± 0,2	–	+
22	–	–	–	–
23	–	–	–	–
24	–	59,6 ± 0,5	+	–

Примечание: Все данные представлены как среднее значение трех повторных экспериментов ± стандартное отклонение при доверительной вероятности $P = 95$ %. Средние значения в столбцах не имеют значимых различий ($p > 0,05$).

Note: The data are represented as a mean of three experiments with standard deviation at a confidence level of $P = 95\%$. The mean values in the columns have no significant differences ($p > 0.05$).

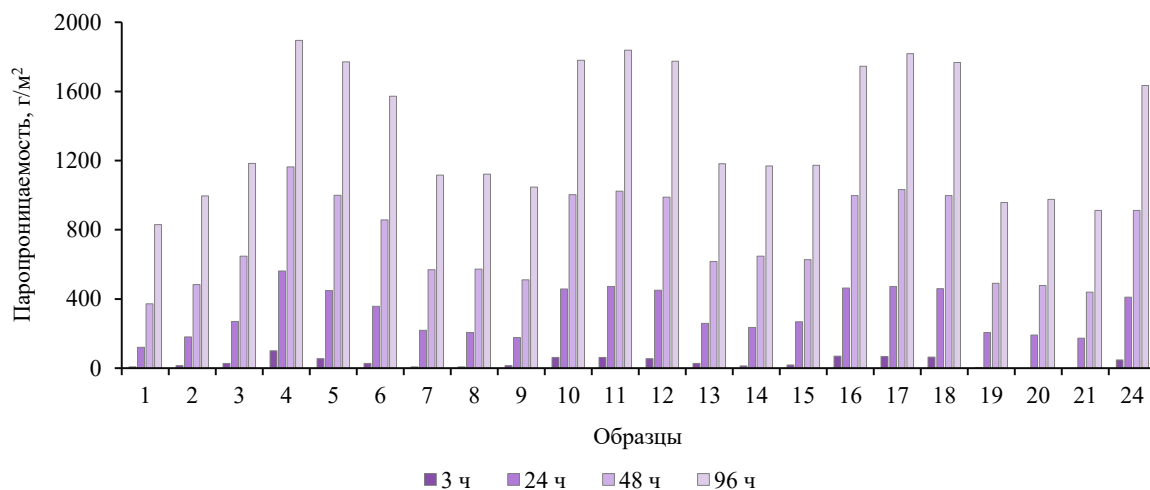


Рисунок 3. Динамика паропроницаемости пленок в течение 96 ч

Figure 3. Vapor permeability during 96 h

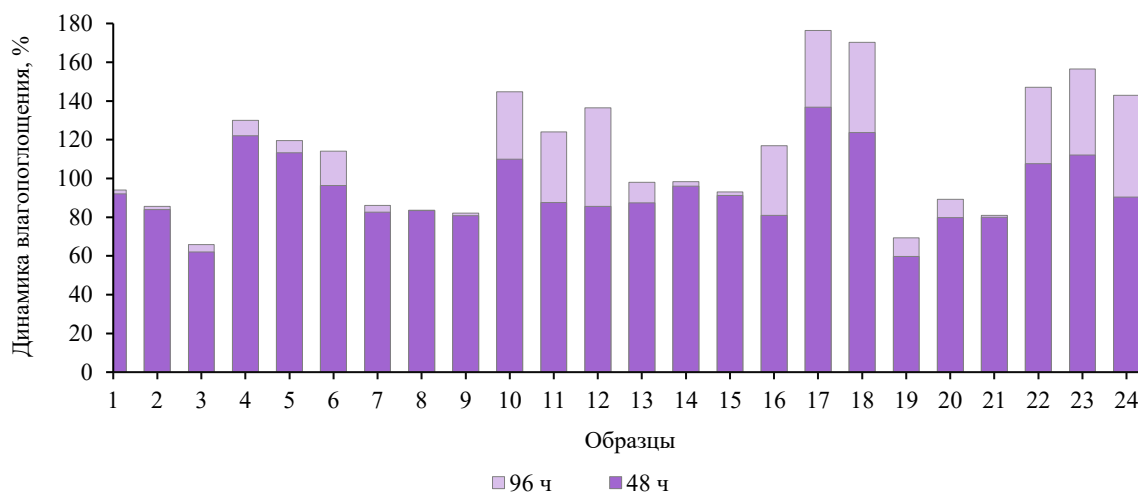


Рисунок 4. Динамика влагопоглощения пленок в течение 96 ч

Figure 4. Moisture absorption during 96 h

желатина, тем самым повышая молекулярную подвижность и увеличивая свободный объем внутри пленок. Таким образом, более гидрофильная природа глицерина и малый молекулярный вес усиливали сродство материалов, пластифицированных им, к воде [48]. Он также может снижать однородность структуры, что приводило к формированию пор и трещин в матрице и, как следствие, к увеличению поглощения влаги. Существенного влияния содержания пластификатора и массового соотношения биополимеров на показатели влагопоглощения пленок установлено не было.

Структура пленок. Примеры микрофотографий пленок приведены на рисунке 5. Образцы характеризовались неоднородной фибриллярной структурой. Наиболее однородным строением обладал образец № 3 (содержание желатина – 4 %, массовое соотношение альгината натрия и желатина – 1,0 г/г, коли-

чество сорбитола – 10 %), что согласуется с данными по паропроницаемости, влагопоглощению и прочности. Аналогичные результаты были получены для пленок на основе смесей крахмала и желатина [51]. В частности, пленки, содержащие глицерин, имели более шероховатую поверхность с порами или пустотами, в то время как пленки из сорбитола имели более однородную поверхность. Однако с ростом количества крахмала и снижением белка вне зависимости от типа пластификатора наблюдалась формирование более однородной поверхности.

Для исследования взаимодействия компонентов в исследуемых системах и понимания различий, проявляющихся в механических и физических свойствах пленок, были получены ИК-спектры для образцов № 1–6, так как данные образцы являлись наиболее перспективными для дальнейшего использования. ИК-

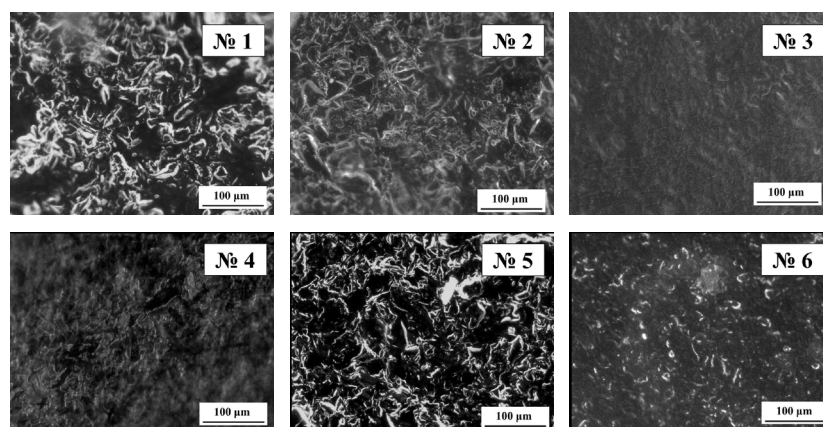


Рисунок 5. Микрофотографии пленок (увеличение $\times 10$)

Figure 5. Micrographs of experimental films ($\times 10$ magnification)

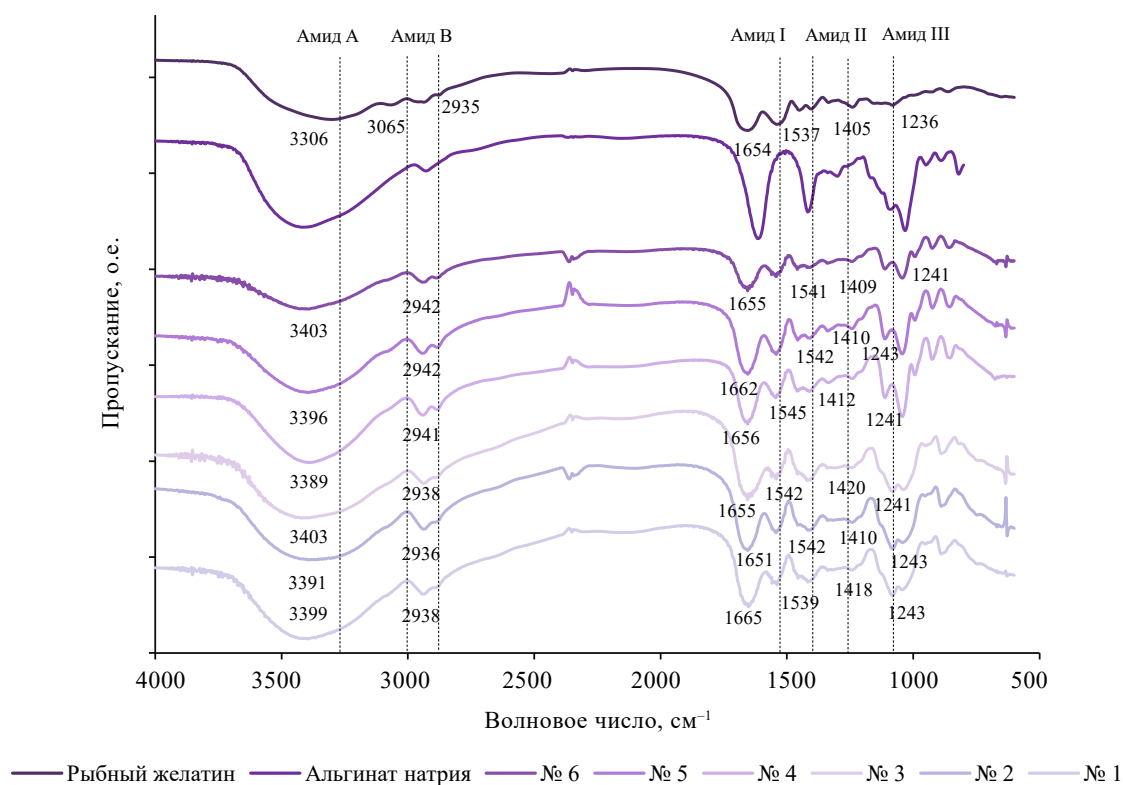


Рисунок 6. ИК-спектры пропускания рыбного желатина, альгината натрия и образцов пленок

Figure 6. IR spectra of fish gelatin, sodium alginate, and film samples

спектры чистых альгината натрия и рыбного желатина, а также пленок, пластифицированных сорбитолом и глицерином, представлены на рисунке 6. На ИК-спектрах присутствовала широкая полоса пропускания в диапазоне волновых чисел 3306–3403 cm^{-1} , которая соответствовала валентным колебаниям гидроксильных групп (Амид А), а также полоса в области 2935–2942 cm^{-1} , отвечающая колебаниям С-Н. Полосы пропускания в области 1654–1665 cm^{-1} , а также 1405–

1420 cm^{-1} , характерны для валентных колебаний асимметричных и симметричных карбоксильных групп. Также наблюдалось наличие полос пропускания в области 1236–1243 cm^{-1} (валентные колебания С-О) [52]. Спектры пленок имели практически аналогичные характерные полосы пропускания, что и чистые образцы альгината натрия и желатина, однако на полученных спектрах для пленок наблюдалось отсутствие пиков в области 3065 cm^{-1} (полоса Амид В, валентные колеба-

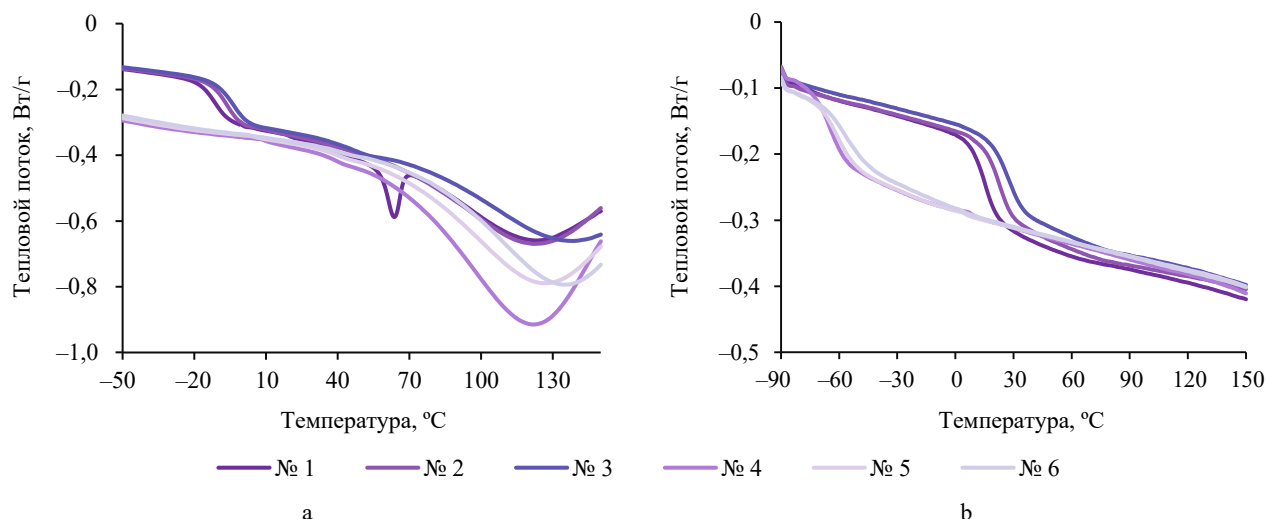


Рисунок 7. Термограммы образцов пленок, полученные при первом (а) и втором (б) сканировании

Figure 7. Thermograms of film samples after scan 1 (a) and 2 (b)

Таблица 4. Термические свойства пленок

Table 4. Thermal properties

№ образца	Состав	Температура плавления, °C	Температура стеклования, °C	
			1 сканирование	2 сканирование
1	4 % РЖ + 2 % АН + 10 % С	63,7 123,0	-12,0	15,8
2	4 % РЖ + 2,8 % АН + 10 % С	121,9	-7,7	22,6
3	4 % РЖ + 4 % АН + 10 % С	138,5	-4,8	25,7
4	4 % РЖ + 2 % АН + 10 % Г	122,0	-74,4	-63,5
5	4 % РЖ + 2,8 % АН + 10 % Г	127,1	-71,1	-60,1
6	4 % РЖ + 4 % АН + 10 % Г	134,8	-68,1	-54,5

Примечание: РЖ – рыбный желатин, АН – альгинат натрия, С – сорбитол, Г – глицерин.

Note: РЖ – fish gelatin, АН – sodium alginate, С – sorbitol, Г – glycerol.

ния N-H), а также смещение полосы Амид А в сторону более высоких волновых чисел, что указывало на образование межмолекулярных связей между молекулами биополимеров [53]. При этом чем больше альгината натрия содержится в системе, тем сильнее смещаются характеристические полосы.

Термические свойства. Исследованы термические свойства образцов пленок, характеризующихся наиболее высокими показателями прочности, а также более низкими значениями паропроницаемости и влагопоглощения (образцы № 1–3) и образцов аналогичного состава, в которых в качестве пластификатора был использован глицерин (№ 4–6). Термограммы приведены на рисунке 7.

На термограммах первого цикла нагрева (рис. 7а) наблюдались переходы стеклования, за которыми следовали широкие эндотермические пики плавления. Наличие данных тепловых эффектов связывали с наложением друг на друга различных процессов, таких как испарение воды, плавление и перекристаллизация

мелких и / или несовершенных кристаллитов желатина, а также с переходом в стеклообразное состояние блоков α -аминокислот в полипептидной цепи желатина [49]. Температура стеклования пленок с сорбитолом увеличивались с ростом массового соотношения альгината натрия и желатина от 0,5 до 1,0 г/г с -12,0 до -4,8 °C соответственно. Для пленок на основе глицерина переход стеклования наблюдается в диапазоне температур от -74,4 до -68,1 °C (табл. 4). Более низкие значения температуры стеклования пленок с глицерином, вероятно, обусловлены более высокой доступностью гидроксильных групп глицерина, которые ограничивали внутри- и межмолекулярные водородные связи между цепями, что приводило к более низкой энергии взаимодействия между цепями белок-полисахарид [51].

При увеличении массового соотношения альгината натрия и желатина от 0,5 до 1,0 г/г наблюдалось возрастание значений температуры плавления от 123,0 до 138,5 °C для систем, содержащих сорбитол (образцы № 1–3), и от 122,0 до 134,8 для систем с глицерином

(образцы № 4–6). Таким образом, тип используемого пластификатора практически не оказывало влияния на температуру плавления пленок – решающим фактором оказывалось содержание полисахарида в системе.

На термограмме, полученной при повторном нагреве (рис. 7б), не наблюдалось пиков плавления. При первом сканировании пленки имели частично кристаллическую структуру, тогда как при повторном сканировании после цикла охлаждения образцы представляли собой полностью аморфные материалы [54]. Для пленок с сорбитолом характерно наличие перехода стеклования в диапазоне температур от 15,8 до 35,7 °С, в то время как для варианта с глицерином переход стеклования наблюдалось в диапазоне от –63,5 до –54,5 °С. Несмотря на широкое изучение стеклований желатиновых пленок, результаты определения температуры стеклования оставались противоречивыми [53, 55]. Основной причиной значительных расхождений могут быть некоторые особенности молекул альгината натрия и желатина, например, молекулярная масса и совместимость биополимеров. Кроме того, температура стеклования тесно связана с условиями получения пленок, включая концентрацию полимера, pH, тип пластификатора и способ сушки [49].

Выводы

В данной работе получены пищевые биоразлагаемые пленки на основе рыбного желатина и альгината натрия. Варьировались следующие параметры: содержание желатина (4, 3 и 2 масс. %), количество и тип пластификатора (10 и 20 масс. %), а также массовое соотношение альгината натрия и желатина – 0,5; 0,7 и 1,0 г/г. Изучены органолептические и механические свойства пленок, а также кинетика паропроницаемости и влагопоглощения. Исследована структура и термическая устойчивость пленок. Рост массового соотношения альгината натрия и желатина повышал прочность и температуру плавления, сохраняя барьерные свойства, в то время как снижение концентрации желатина с 4 до 2 % и увеличение доли пластификатора с 10 до 20 % ухудшали механические свойства пленок. Установлены оптимальные соотношения компонентов в системе, обеспечивающие формирование пленочных материалов с улучшенными механическими и барьерными свойствами, включая пониженную гигроскопичность и паропроницаемость, а также повышенные температуры плавления (~135–138 °С). Наилучшие свойства продемонстрировала композиция, содержащая 4 % желатина, массовое соотношение альгината натрия и желатина – 1,0 г/г желатина и 10 % пластификатора. Сорбитол в качестве пластификатора приводил к формированию пленок с более однородной структурой, что выражалось в снижении показателей паропроницаемости и влагопоглощения, а также увеличению прочности. Однако он снижал пластичность пленок. Введение глицерина в состав пленочных материалов способствовало повышению их пластифицирующих

характеристик, однако, сопровождалось ростом показателей паропроницаемости и влагопоглощения. Таким образом, композиции, содержащие сорбитол в качестве пластифицирующего агента, могут применяться для создания жесткой тары или контейнеров для хранения готовых пищевых продуктов благодаря низкой пластичности. Композиции, содержащие глицерин, предпочтительнее применять для создания гибких упаковочных материалов в виде пленок для хранения продуктов с низким содержанием влаги, при этом механические свойства можно регулировать путем варьирования соотношения альгинат натрия / желатин.

Результаты данного исследования и выявленные закономерности будут служить основой для модификации свойств биополимерных композиций путем регулирования типа пластификатора, концентрации и соотношения компонентов в системе с целью создания пищевых пленок с низкой гигроскопичностью и высокими механическими характеристиками. Дальнейшие исследования будут сфокусированы на исследовании различных комбинаций пластификаторов для обеспечения баланса между механической прочностью и проницаемостью пленок. Также представляет интерес разработка методов повышения устойчивости пленок к воздействию влаги, что позволит расширить область их применения в пищевой промышленности.

Критерии авторства

Д. С. Колотова – концептуализация, курирование данных, методология, исследование, проверка, визуализация, написание – оригинальный черновик, написание – обзор и редактирование, привлечение финансирования. В. В. Бордиян – формальный анализ, исследование, написание – обзор и редактирование. Е. В. Боровинская – формальный анализ, исследование, написание – обзор и редактирование. С. О. Воропаева – формальный анализ, исследование, написание – обзор и редактирование.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Работа выполнена на базе научно-исследовательской лаборатории «Химия и технология морских биоресурсов» Мурманского арктического университета, созданной при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (FENR-2024-0001). Авторы также выражают благодарность А. С. Стопореву, кандидату химических наук, доценту Московского физико-технического института, за помощь в проведении экспериментов по дифференциальной сканирующей калориметрии.

Contribution

D.S. Kolotova developed the research concept, provided the data curation, designed the methodology, performed the research, validation, and visualization, drafted and

proofread the manuscript, and attracted research funds. V.V. Bordian was responsible for the formal analysis, research, drafting, and proofreading. E.V. Borovinskaya provided the formal analysis, research, drafting, and proofreading. S.O. Voropaeva performed the formal analysis, conducted the research, and drafted and proofread the manuscript.

Conflict of interest

The authors state that there is no conflict of interest.

Acknowledgements

The research was conducted on the premises of the Research Laboratory for Chemistry and Technology of Marine Bioresources, Arctic University, Murmansk, created with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (FENR-2024-0001). The authors also express their gratitude to Associate Professor A.S. Stoporev, Candidate of Chemical Sciences, Moscow Institute of Physics and Technology, for assistance in differential scanning calorimetry.

Список литературы / References

1. Stoica M, Bichescu CI, Crețu CM, Dragomir M, Ivan AS, et al. Review of bio-based biodegradable polymers: Smart solutions for sustainable food packaging. *Foods*. 2024;13(19):3027. <https://doi.org/10.3390/foods13193027>
2. Birania S, Kumar S, Kumar N, Attkan AK, Panghal A, et al. Advances in development of biodegradable food packaging material from agricultural and agro-industry waste. *Journal of Food Process Engineering*. 2022;45(1):e13930. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13930>
3. Yin Y, Woo MW. Transitioning of petroleum-based plastic food packaging to sustainable bio-based alternatives. *Sustainable Food Technology*. 2024;2(3):548–566. <https://doi.org/10.1039/D4FB00028E>
4. Khandeparkar AS, Paul R, Sridhar A, Lakshmaiah VV, Nagella P. Eco-friendly innovations in food packaging: A sustainable revolution. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2024;39:101579. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2024.101579>
5. Roy S, Malik B, Chawla R, Bora S, Ghosh T, et al. Biocompatible film based on protein/polysaccharides combination for food packaging applications: A comprehensive review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;(Part 1):134658. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134658>
6. Alam MW, Saravanan P, Al-Sowayan NS, Almutairi HH, Rosaiah P, et al. Polysaccharides and proteins based edible coatings for food protection: Classification, properties, & public demands (2020–2024). *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2025;19:1533–1556. <https://doi.org/10.1007/s11694-024-03090-9>
7. Rahman S, Gogoi J, Dubey S, Chowdhury D. Animal derived biopolymers for food packaging applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;255:128197. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128197>
8. Jin J, Luo B, Xuan S, Shen P, Jin P, et al. Degradable chitosan-based bioplastic packaging: Design, preparation and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;(Part 1):131253. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131253>
9. Gülpınar M, Tomul F, Arslan Y, Tran HN. Chitosan-based film incorporated with silver-loaded organo-bentonite or organo-bentonite: Synthesis and characterization for potential food packaging material. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;274(Part 2):133197. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133197>
10. Кадималиев Д. А., Парчайкина О. В., Сюсин И. В., Чаиркин И. В., Малафеев А. Н. и др. Влияние трансглютаминазы на свойства пленок на основе хитозана и желатина. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2021. Т. 57. № 3. С. 262–269. [Kadimaliev DA, Parchaykina OV, Syusin IV, Malafeev AN, Devyatkin AA, et al. Effect of transglutaminase on the properties of films prepared from chitosan and gelatin. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2021;57(3):262–269. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31857/S0555109921030041>
11. Матвеева В. Г., Тихонов Б. Б., Лисичкин Д. Р., Сульман М. Г. Получение стабильных биоразлагаемых пленок на основе хитозана для использования в качестве пищевой упаковки. *Вестник Тверского государственного университета. Серия «Химия»*. 2024. № 2. С. 99–105. [Matveeva VG, Tikhonov BB, Lisichkin DR, Sulman MG. Obtaining stable biodegradable chitosan-based films for use as food packaging. *Herald of Tver State University. Series: Chemistry*. 2024;(2):99–105. (In Russ.)] <https://doi.org/10.26456/vtchem2024.2.12>
12. Мукатова М. Д., Сколков С. А., Моисеенко М. С., Киричко Н. А. Пищевая биоразлагаемая пленка с использованием хитозана. *Вестник астраханского государственного технического университета. Серия: рыбное хозяйство*. 2018. № 3. 124–131. [Mukatova MD, Skolkov SA, Moiseenko MS, Kirichko NA. Food biodegradable film containing chitosan. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*. 2018;(3):124–131. (In Russ.)] <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2018-3-124-131>
13. El-Sakhawy M, Tohamy HS, AbdelMohsen MM, El-Missiry M. Biodegradable carboxymethyl cellulose based material for sustainable/active food packaging application. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*. 2023;37(6):2035–2050. <https://doi.org/10.1177/08927057231211236>
14. Юнусов Х. Э., Сарымсаков А. А., Рашидова С. Ш. Структура и свойства биоразлагаемых пленок карбоксиметилцеллюлозы, содержащих наночастицы серебра. *Высокомолекулярные соединения. Серия А*. 2014. Т. 56. № 3. С. 276–281. [Yunusov KE, Sarymsakov AA, Rashidova SS. Structure and properties of biodegradable carboxymethyl cellulose films containing silver nanoparticles. *Polymer Science. Series A*. 2014;56(3):276–281. (In Russ.)] <https://doi.org/10.7868/S2308112014030183>

15. Демидова А. В., Макарова Н. В., Быков Д. Е., Еремеева Н. Б., Быкова Т. О. Исследование съедобной упаковки на основе яблочного пюре с добавкой пластификатора карбоксиметилцеллюлозы. *пищевая промышленность*. 2016. № 12. С. 8–11. [Demidova AV, Makarova NV, Bykov DE, Eremeeva NB, Bykova TO. Research of edible packaging on the basis of apple puree with addition of the plasticizer carboxymethylcellulose. *Food Industry*. 2016;(12):8–11. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/XBSOTT>
16. Bajer D. Eco-friendly, biodegradable starch-based packaging materials with antioxidant features. *Polymers*. 2024; 16(7):958. <https://doi.org/10.3390/polym16070958>
17. Подкидышева М., Петрова А. С. Получение и исследование биоразлагаемой белково-полисахаридной пленки на основе картофельного крахмала. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2023. № 7. [Podkidisheva M, Petrova AS. Production and research of biodegradable protein-polysaccharide film based on potato starch. *International Research Journal*. 2023;7(133). (In Russ.)] <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.133.82>
18. Mercadal PA, Picchio ML, González A. Food-protecting films based on soy protein isolate and natural deep eutectic solvents: Antimicrobial and antioxidant properties. *Food Hydrocolloids*. 2024;147(Part A):109414. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109414>
19. Pires AF, Díaz O, Cobos A, Pereira CD. A review of recent developments in edible films and coatings-focus on whey-based materials. *Foods*. 2024;13(16):2638. <https://doi.org/10.3390/foods13162638>
20. Sun F, Zhao J, Shan P, Wang K, Li H, *et al.* Gelatin-based composite film integrated with nanocellulose and extract-metal complex derived from coffee leaf for sustainable and active food packaging. *Food Hydrocolloids*. 2025;159:110610. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110610>
21. Bhatia S, Al-Harrasi A, Ullah S, Shah YA, Al-Azri MS, *et al.* Fabrication, characterization and antioxidant activities of pectin and gelatin based edible film loaded with *Citrus reticulata* L. essential oil. *Journal of Food Process Engineering*. 2024;47(4):e14583. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14583>
22. Shankar S, Jaiswal L, Rhim JW. Gelatin-based nanocomposite films: Potential use in antimicrobial active packaging. In: Barros-Velázquez J, editor. *Antimicrobial Food Packaging*. NY: Academic Press; 2025, pp. 461–472. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90747-7.00030-2>
23. Аджиева Н. К., Ермагамбетова А. Д., Тажибаева С. М., Тюсюпова Б. Б., Мусабеков К. Б. Получение и исследование структурно-механических свойств биоразлагаемых пленок на основе желатина. *Вестник Алматинского технологического университета*. 2024. Т. 143. № 1. С. 133–143. [Ajyieva NK, Yermagambetova AD, Tazhibayeva SM, Tyussyupova BB, Musabekov KB. Preparation and investigation of the structural and mechanical properties of biodegradable gelatin-based films. *The Journal of Almaty Technological University*. 2024;143(1):133–143. (In Russ.)] <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2024-1-133-143>
24. Якубова О. С., Вострикова Л. Н., Кушбанова А. А. Формирование свойств биodeградируемых пленок на основе рыбного желатина. *Вестник астраханского государственного технического университета. Серия: рыбное хозяйство*. 2024. Т. 2024. № 2. С. 118–127. [Yakubova OS, Vostrikova LN, Kushbanova AA. Formation of biodegradable films properties based on gelatin. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*. 2024;(2):118–127. (In Russ.)] <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2024-2-118-127>
25. Oliver-Cadena M, León-Martínez FM, Renneckar S, Gutiérrez MC. Dual system to develop fish gelatin films with improved water resistance properties: Enzymatic cross-linking and multilayer lamination. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2024;18:7052–7066. <https://doi.org/10.1007/s11694-024-02716-2>
26. Smaoui S, Chaari M, Agriopoulou S, Varzakas T. Green active films/coatings based on seafood by-products (chitosan and gelatin): A powerful tool in food packaging. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2025;15:8331–8350. <https://doi.org/10.1007/s13399-024-05669-0>
27. Bakry NF, Isa MINM, Sarbon NM. Effect of sorbitol at different concentrations on the functional properties of gelatin/carboxymethyl cellulose (CMC)/chitosan composite films. *International Food Research Journal*. 2017;24(4):1753–1762.
28. Gómez-Guillén MC, Pérez-Mateos M, Gómez-Estaca J, López-Caballero E, Giménez B, *et al.* Fish gelatin: A renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Science & Technology*. 2009;20(1):3–16. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.10.002>
29. Ghasemlou M, Khodaiyan F, Oromiehie A. Physical, mechanical, barrier, and thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from kefiran. *Carbohydrate Polymers*. 2011;84(1):477–483. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.010>
30. Wang X, Zhang H, Zhang X, Shen C, Liu M, *et al.* A comparison study on effects of polyglycerols on physical properties of alginate films. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;254(Part 3):127879. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127879>
31. Sofi AZM, Ispindi NI, Babarinsa OI, Zaudin NAC, Yusuf NNAN, *et al.* Analysis of the biodegradable plastic formulation of *Zea mays* L (corn) and *Solanum tuberosum* (potato) with glycerol and sorbitol as plasticizers. *AIP Conference Proceedings*. 2025;3271(1):030009. <https://doi.org/10.1063/5.0259257>
32. Rosmawati R, Sari SF, Asnani A, Embe W, Asjun A, *et al.* Influence of sorbitol and glycerol on physical and tensile properties of biodegradable–edible film from snakehead gelatin and κ -Carrageenan. *International Journal of Food Science*. 2025;2025(1):7568352. <https://doi.org/10.1155/ijfo/7568352>

33. Xu X, Wang B, Gao W, Sui J, Wang J, *et al.* Effect of different proportions of glycerol and D-mannitol as plasticizer on the properties of extruded corn starch. *Frontiers in Nutrition*. 2024;10:1335812. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1335812>
34. Khanonkon N, Dang KM, Yoksan R. Injection-molded thermoplastic cassava starch modified with single and mixed polyol plasticizers. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;280(Part 2):136335. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136335>
35. Sirbu EE, Dinita A, Tănase M, Portoacă AI, Bondarev A, *et al.* Influence of plasticizers concentration on thermal, mechanical, and physicochemical properties on starch films. *Processes*. 2024;12(9):2021. <https://doi.org/10.3390/pr12092021>
36. Shah YA, Bhatia S, Al-Harrasi A, Tarahi M, Almasi H, *et al.* Insights into recent innovations in barrier resistance of edible films for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;271(Part 1):132354. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132354>
37. Kumar L, Ramakanth D, Akhila K, Gaikwad KK. Edible films and coatings for food packaging applications: A review. *Environmental Chemistry Letters*. 2022;20:875–900. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01339-z>
38. Saklani P, Siddhnath DS, Singh SM. A review of edible packaging for foods. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2019;8(7):2885–2895. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.807.359>
39. Cazón P, Velazquez G, Ramírez JA, Vázquez M. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. *Food Hydrocolloids*. 2017;68:136–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.009>
40. Mohamed SAA, El-Sakhawy M, El-Sakhawy MA. Polysaccharides, protein and lipid-based natural edible films in food packaging: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2020;238:116178. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116178>
41. Dou L, Li B, Zhang K, Chu X, Hou H. Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols. *International journal of biological macromolecules*. 2018;118(Part B):1377–1383. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.121>
42. Chaari M, Elhadeif K, Akermi S, Akacha BB, Fourati M, *et al.* Novel active food packaging films based on gelatin-sodium alginate containing beetroot peel extract. *Antioxidants*. 2022;11(11):2095. <https://doi.org/10.3390/antiox11112095>
43. Shan P, Wang K, Yu F, Yi L, Sun L, *et al.* Gelatin/sodium alginate multilayer composite film crosslinked with green tea extract for active food packaging application. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2023;662:131013. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2023.131013>
44. Yan P, Lan W, Xie J. Modification on sodium alginate for food preservation: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2024;143:104217. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104217>
45. Suderman N, Isa MIN, Sarbon NM. The effect of plasticizers on the functional properties of biodegradable gelatin-based film: A review. *Food Bioscience*. 2018;24:111–119. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.06.006>
46. Azmi NS, Basha RK, Othman SH, Mohammed MAP, Wakisaka M, *et al.* Development of fish gelatin film for anti-fogging mushroom packaging. *Journal of Food Engineering*. 2025;387:112306. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2024.112306>
47. Al-Hassan AA. Development and characterization of camel gelatin films: Influence of camel bone age and glycerol or sorbitol on film properties. *Heliyon*. 2024;10(9):e30338. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30338>
48. Cao N, Yang X, Fu Y. Effects of various plasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. *Food hydrocolloids*. 2009;23(3):729–735. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.017>
49. Rivero S, García MA, Pinotti A. Correlations between structural, barrier, thermal and mechanical properties of plasticized gelatin films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2010;11(2):369–375. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.07.005>
50. Siracusa V, Rocculi P, Romani S, Rosa MD. Biodegradable polymers for food packaging: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2008;19(12):634–643. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.07.003>
51. Al-Hassan AA, Norziah MH. Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids*. 2012;26(1):108–117. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.04.015>
52. Sartori C, Finch DS, Ralph B, Gilding K. Determination of the cation content of alginate thin films by FTi.r. spectroscopy. *Polymer*. 1997;38(1):43–51. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(96\)00458-2](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(96)00458-2)
53. Ma X, Qiao C, Zhang J, Xu J. Effect of sorbitol content on microstructure and thermal properties of chitosan films. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;119:1294–1297. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.060>
54. Yakimets I, Wellner N, Smith AC, Wilson RH, Farhat I, *et al.* Mechanical properties with respect to water content of gelatin films in glassy state. *Polymer*. 2005;46(26):12577–12585. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.10.090>
55. Kowalonek J, Łukomska B, Szydłowska-Czerniak A. Color, structure, and thermal stability of alginate films with raspberry and/or black currant seed oils. *Molecules*. 2025;30(2):245. <https://doi.org/10.3390/molecules30020245>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2590>
<https://elibrary.ru/EJREBB>

Обзорная статья
<https://fptt.ru>

Особенности получения галактоолигосахаридов с использованием дрожжей *Kluyveromyces*



С. А. Рябцева*, М. А. Шпак, С. Н. Сазанова

Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

Поступила в редакцию: 18.06.2025

Принята после рецензирования: 21.07.2025

Принята к публикации: 05.08.2025

*С. А. Рябцева: ryabtseva07@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0001-9803-8709>

М. А. Шпак: <https://orcid.org/0000-0002-0119-9061>

С. Н. Сазанова: <https://orcid.org/0000-0002-8200-3007>

© С. А. Рябцева, М. А. Шпак, С. Н. Сазанова, 2025



Аннотация.

Галактоолигосахариды обладают пребиотической активностью, их получают из лактозы с использованием бета-галактозидаз бактериального или грибного происхождения. Цель обзора – выявление и анализ факторов, влияющих на биосинтез и очистку галактоолигосахаридов, с использованием бета-галактозидаз дрожжей рода *Kluyveromyces*, а также перспективных направлений исследований в этой области.

Объектами исследования стали научные публикации по вопросам получения галактоолигосахаридов с использованием бета-галактозидаз дрожжей. Для поиска информации были использованы международные базы данных Scopus, Web of Science, PubMed, eLIBRARY.RU. Для анализа было отобрано 87 источников, в основном статьи в рецензируемых журналах, опубликованные преимущественно за последние 10 лет.

Выбор фермента и формы его применения, оптимизация условий биосинтеза и очистки являются наиболее важными для регулирования выхода, состава и свойств анализируемых веществ. Бета-галактозидазы из *Kluyveromyces* могут одновременно катализировать реакции гидролиза и трансгалактозилирования. Условия протекания процессов биосинтеза галактоолигосахаридов с этими ферментами широко варьируют в разных публикациях, как и их выход, но чаще всего этот показатель не превышает 30–40 %, при этом общая конверсия лактозы достигает 80–90 %. Применение бета-галактозидаз *Kluyveromyces* в виде целноклеточных ферментов, в иммобилизованной форме или совместно с другими ферментами позволяет улучшить экономические показатели процессов биосинтеза и / или выход и / или структуру рассматриваемых веществ. Прямой их синтез в молоке или сыворотке дает возможность получать новые функциональные молочные продукты и добавки. Селективная биоконверсия с дрожжами *Kluyveromyces* позволяет повысить чистоту галактоолигосахаридов до 90 % экономически выгодным и экологически безопасным путем.

К перспективным направлениям можно отнести использование побочного молочного сырья для получения продуктов с галактоолигосахаридами, комбинированное применение ферментов разных продуцентов, а также комплексное применение бета-галактозидаз *Kluyveromyces* для их биосинтеза и очистки.

Ключевые слова. Лактоза, бета-галактозидазы, *Kluyveromyces*, трансгалактозилирование, гидролиз, молочная сыворотка, очистка

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-26-20093, <https://rscf.ru/project/25-26-20093/>

Для цитирования: Рябцева С. А., Шпак М. А., Сазанова С. Н. Особенности получения галактоолигосахаридов с использованием дрожжей *Kluyveromyces*. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 581–606. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2590>

Production of Galacto-Oligosaccharides Using *Kluyveromyces* Yeast



Svetlana A. Ryabtseva*, Maria A. Shpak, Serafima N. Sazanova

North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

Received: 18.06.2025
Revised: 21.07.2025
Accepted: 05.08.2025

*Svetlana A. Ryabtseva: ryabtseva07@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-9803-8709>
Maria A. Shpak: <https://orcid.org/0000-0002-0119-9061>
Serafima N. Sazanova: <https://orcid.org/0000-0002-8200-3007>

© S.A. Ryabtseva, M.A. Shpak, S.N. Sazanova, 2025



Abstract.

Galacto-oligosaccharides are known for their prebiotic activity. They are obtained from lactose using bacterial or fungal beta-galactosidases. This article describes the factors that affect the biosynthesis and purification of galacto-oligosaccharides using *Kluyveromyces* yeasts, as well as summarizes some prospective research areas in this sphere.

The research covered ten years of scientific publications on the production of galacto-oligosaccharides with yeast beta-galactosidases. The review pool included 87 articles published in peer-reviewed journals and registered in Scopus, Web of Science, PubMed, and eLIBRARY.RU.

The yield, composition, and properties of galacto-oligosaccharides depend on the enzyme, its application, biosynthesis optimization, and purification conditions. Beta-galactosidases from *Kluyveromyces* can simultaneously catalyze hydrolysis and transgalactosylation reactions. The biosynthesis conditions vary a lot across the review pool, as does the yield of galacto-oligosaccharides, which usually remains below 30–40% while the total lactose conversion reaches 80–90%. *Kluyveromyces* beta-galactosidases can be used as whole-cell enzymes in immobilized form or together with other enzymes. They improve the economic indicators of biosynthesis, and / or the yield and / or the structure of galacto-oligosaccharides. If synthesized directly in milk or whey, galacto-oligosaccharides may yield new functional dairy products and additives. The method of selective bioconversion with *Kluyveromyces* yeast brings the purity of galacto-oligosaccharides up to 90% in an economical and sustainable way.

Eventually, galacto-oligosaccharides can be obtained from dairy by-products. Other promising areas include the enzymic mixes of different producers, as well as a comprehensive use of *Kluyveromyces* beta-galactosidases for galacto-oligosaccharide biosynthesis and purification.

Key words. Lactose, beta-galactosidases, *Kluyveromyces*, transgalactosylation, hydrolysis, whey, purification

Funding. The work was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 25-26-20093, <https://rscf.ru/project/25-26-20093/>

For citation: Ryabtseva SA, Shpak MA, Sazanova SN. Production of Galacto-Oligosaccharides Using *Kluyveromyces* Yeast. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):581–606. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2590>

Введение

Галактоолигосахаридами (ГОС) называют биополимеры углеводной природы, состоящие в основном из галактозных остатков и обладающие пребиотической активностью. ГОС не расщепляются ферментами человека и стимулируют развитие бифидобактерий и другой сахаролитической кишечной микробиоты, вырабатывающей короткоцепочечные жирные кислоты и ряд других полезных метаболитов. Способность ГОС оказывать благоприятное воздействие на здоровье человека доказана многочисленными исследованиями, как лабораторными, так и клиническими [1].

Впервые ГОС начали применять в Японии в 1995 г., когда они были узаконены в качестве пищи для здоро-

вого питания, согласно системе сертификации FOSHU. В настоящее время уже девять ГОС-содержащих ингредиентов имеют международный статус безопасности GRAS и могут быть использованы в производстве разнообразных пищевых продуктов. Эта группа пребиотиков наиболее близка по структуре и свойствам к олигосахаридам женского молока, поэтому прежде всего нашла применение в производстве смесей для младенцев. Сфера использования ГОС постоянно расширяется благодаря их низкой калорийности, сладости, хорошей растворимости, устойчивости к температуре и pH [1, 2]. Сегментация рынка ГОС включает функциональные продукты питания и напитки, детские смеси, пищевые и кормовые добавки, фармацевтические препараты

с общим объемом реализации в 510 млн долларов за 2024 г. По прогнозам, среднегодовой темп роста составит 13,4 % в последующие 10 лет [3].

Анализ библиографической карты (рис. 1), полученной с использованием VOSviewer 1.6.20 и базы данных PubMed, позволил выделить основные направления исследований в области изучения ГОС. Ученые активно занимаются вопросами применения ГОС для изменения микробиоты кишечника младенцев и беременных женщин, в т. ч. с целью предупреждения аллергии (зеленый кластер), а также тесно связанной с темой повышения иммунитета, предупреждения запоров и колитов (голубой кластер). К важным объектам исследований относятся механизмы улучшения абсорбции железа (фиолетовый кластер), профилактики и лечения колоректального рака, ожирения и депрессии (синий кластер) у взрослых людей. Актуальным направлением остается совершенствование процессов получения ГОС с использованием бета-галактозидаз (лактаз, ЕС 3.2.1.23) для трансгалактозилирования лактозы, при этом значительное внимание уделяется процессам очистки и иммобилизации ферментов (желтый и красный кластеры).

В настоящее время в литературе можно найти информацию о различных видах ГОС, включая альфа-, бета-, фрукто-, гуманизированные и другие ГОС [4–7]. В большинстве источников (и в данном обзоре) под тер-

мином ГОС подразумевают смесь олигосахаридов, состоящих из нескольких молекул галактозы и одной молекулы глюкозы, соединенных бета-связями преимущественно со степенью полимеризации от 2 до 8 и получаемых из лактозы с использованием бета-галактозидаз (т. е. бета-ГОС).

Возможность использования для производства ГОС побочного сырья, содержащего лактозу, является привлекательной для молокоперерабатывающих предприятий, т. к. эта группа пребиотиков имеет высокую добавленную стоимость и востребована на рынке продуктов функционального питания [8]. Для биосинтеза ГОС из лактозы применяют бета-галактозидазы бактериального или грибного происхождения, обладающие способностью не только к гидролизу лактозы, но и переносу галактозного остатка (трансгалактозилирование). Свойства бета-галактозидаз и условия проведения ферментации оказывают влияние на структуру ГОС, которая определяет возможность их участия в метаболизме полезной микробиоты кишечника [7, 9–11].

В качестве применяемых для синтеза ГОС продуцентов бета-галактозидаз в публикациях упоминают более 40 видов различных микроорганизмов. Из прокариот используют виды архей, актинобактерий (в т. ч. рода *Bifidobacterium*), фирмикутов (такие как *Bacillus*, *Lactobacillus* и т. д.), протеобактерий (в т. ч. *Escherichia*). Среди эукариот исследовали представителей

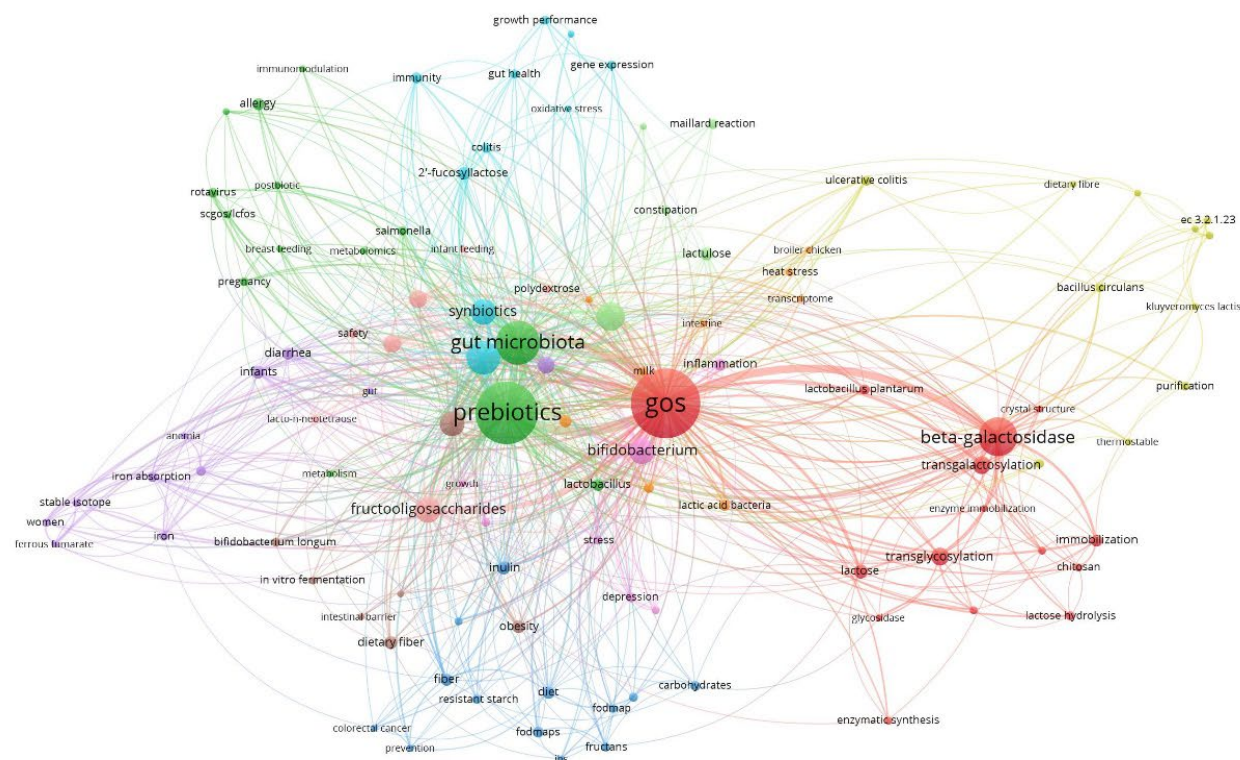


Рисунок 1. Библиографическая карта, построенная на основе данных PubMed по ключевому слову “galactooligosaccharides” (gos) с использованием VOSviewer 1.6.20

Figure 1. PubMed publications on galacto-oligosaccharides: bibliographic map, VOSviewer 1.6.20

классов аскомицетных (например, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Kluyveromyces*) и базидиомицетных (*Sporobolomyces* и др.) грибов [1, 2, 9, 12, 13]. К наиболее часто применяемым при получении ГОС продуцентам относятся спорообразующие палочки *Bacillus circulans*, молочнокислые бактерии *Lactobacillus plantarum* и дрожжи *Kluyveromyces lactis* (рис. 1).

Бета-галактозидазы лактозосбраживающих дрожжей рода *Kluyveromyces* имеют ряд преимуществ по сравнению с ферментами других продуцентов: они хорошо изучены в плане структуры и механизмов действия, имеют доказанную безопасность, длительную историю применения в пищевой промышленности и биотехнологии, значительные объемы производства в разных странах, высокую активность в лактозосодержащем сырье [10, 14]. Еще один аспект, выделяющий эти дрожжи из ряда других продуцентов – возможность их использования не только для биосинтеза, но и в процессах очистки ГОС от лактозы и моносахаридов [9, 12]. В российских коллекциях промышленных микроорганизмов имеется много видов и штаммов *Kluyveromyces*, исследования их бета-галактозидазной активности в нашей стране продолжаются [15–17], что важно для обеспечения технологического суверенитета.

Цель обзора – выявление и анализ факторов, влияющих на биосинтез и очистку ГОС, с использованием лактозосбраживающих дрожжей рода *Kluyveromyces*, а также перспективных направлений исследований в этой области.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования – научные публикации по вопросам получения галактоолигосахаридов с использованием бета-галактозидаз дрожжей. Для поиска

информации были использованы международные базы данных Scopus, Web of Science, PubMed, eLIBRARY за период с 1965 по 2025 г. Материалы конференций, монографии и учебники в качестве источников информации не рассматривали.

Для анализа было отобрано 87 источников, в основном статьи в рецензируемых высокорейтинговых журналах, опубликованные преимущественно за последние 10 лет (в т. ч. 44 – за последние 5 лет).

Результаты и их обсуждение

Основные процессы и механизмы получения галактоолигосахаридов. В известных способах производства препаратов галактоолигосахаридов (ГОС), имеющих статус безопасности GRAS, в т. ч. с использованием ферментов *Kluyveromyces*, можно выделить четыре основных блока. Эти блоки включают процессы подготовки разных видов сырья, содержащих лактозу, ее биотрансформацию в ГОС и завершающие операции, направленные на повышение концентрации определенных фракций ГОС и хранимостепособности готовых продуктов (рис. 2).

В качестве сырья для крупномасштабного производства ГОС, как правило, используют рафинированную лактозу, т. к. затраты на нее могут быть меньше, чем стоимость очистки побочного молочного сырья от белковых и минеральных компонентов, которая может составлять более половины общей себестоимости продукта [12]. Однако глубокой переработке молочной сыворотки уделяется все больше внимания в связи с ее низкой стоимостью и экологическими проблемами ее сброса. Обычно сыворотку сначала подвергают фракционированию с помощью баромембранного процесса ультрафильтрации. Отделенные сывороточные

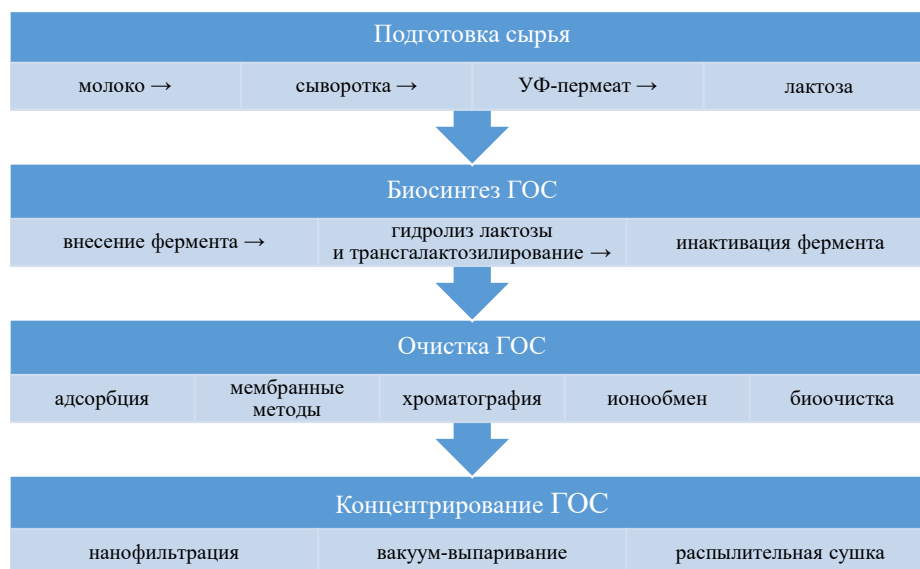


Рисунок 2. Основные процессы получения галактоолигосахаридов

Figure 2. Processes of galacto-oligosaccharide production

белки используют для обогащения пищевых продуктов, а полученный фильтрат (УФ-пермеат) иногда после деминерализации – для получения лактозы или ее производных, например ГОС [8]. Натуральные молоко и сыворотка могут быть использованы также как среда для биосинтеза и получения неочищенных ГОС-содержащих продуктов [18–20].

После приготовления концентрированного раствора лактозы (20–40 %) в горячей воде ($> 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ для преодоления порога растворимости) проводят регулирование pH и температуры раствора до значений, оптимальных для синтеза ГОС. Теоретически ГОС можно получить из лактозы путем химического гидролиза и полимеризации моносахаридов в сильноокислых ($\text{pH} \leq 1,5$) средах при высоких температурах ($> 90\text{ }^{\circ}\text{C}$). Кроме применения агрессивных сред и энергетических затрат, этот метод имеет еще один существенный недостаток – невозможность контроля региоселективности получаемых в олигосахаридах связей [21]. Для ГОС важно наличие бета-гликозидных связей, потому что именно они делают эти вещества неперевариваемыми. Это является одним из основных требований к пребиотикам. Применение в качестве катализаторов трансгалактозилирования бета-галактозидаз позволяет сохранить бета-связи между моносахаридными остатками, поэтому все известные промышленные способы получения ГОС основаны на такой реакции [12].

Биотрансформация лактозы под действием бета-галактозидазы начинается с образования их комплекса, в котором активный сайт фермента связан с галактозным остатком. После разрыва связи между моносахаридами и отделения глюкозы галактоза остается связанной с бета-галактозидазой в форме галактозил-ферментного комплекса. Если активность воды высокая, он может гидролизиться с выделением галактозы. В концентрированных углеводных растворах бета-галактозидаза может играть роль не только гидролазы, но и псевдо-трансферазы, перенося остаток галактозы на другие углеводы и формируя с ними бета-связи. При этом могут получаться как дисахариды с отличным от лактозы строением, так и более сложные олигосахариды со степенью полимеризации 3–10. Реакции трансгалактозилирования с гидролазами подчиняются закономерностям кинетически контролируемого синтеза, при котором состав получаемых ГОС будет определяться прежде всего структурой фермента. На выход ГОС будет влиять не только активность фермента, определяемая его происхождением, степенью очистки и формой применения (свободная, иммобилизованная), но и фактор времени, потому что для таких процессов характерны кратковременные максимальные выходы целевых продуктов, зависящие от соотношения скоростей синтеза и гидролиза углеводов [1, 14, 22].

Традиционно биосинтез ГОС проводят в реакторах периодического действия с мешалкой. Окончание реакций обычно контролируется инактивацией фермента при помощи нагревания или изменения pH [9, 12].

Для продления срока службы биокатализаторов применяют непрерывные процессы с иммобилизацией ферментов в реакторах с неподвижным слоем и фиксированной каталитической мембраной, а также ферментативные мембранные реакторы. Получение ГОС в них осуществляют свободным или иммобилизованным ферментом в реакторе с мешалкой, соединенном с внешним мембранным модулем, благодаря чему достигают одновременного фракционирования смеси. Несмотря на то что такой подход считается многообещающей альтернативой периодическим процессам, возможное загрязнение мембраны и потеря активности фермента в течение длительной эксплуатации сдерживают широкое применение ферментативных мембранных реакторов [22].

Получаемые в результате ферментации смеси имеют сложный состав. В основном это растворы моно-, ди-, три- и тетра-сахаридов, но обнаружены и более сложные олигосахариды. Количество разных по структуре углеводов, отличающихся по степени полимеризации и бета-связям, может достигать 30–40 [4, 23, 24], а по данным Logtenberg *et al.* [25], более 100, в зависимости от применяемого фермента и условий реакции.

Хотя в последние годы получены доказательства пребиотической активности некоторых дисахаридов, общепризнанными пребиотиками считаются ГОС со степенью полимеризации 3–6 [9, 12]. Лактоза нежелательна для людей с лактазной недостаточностью, а глюкоза – для диабетиков. Кроме того, лактозу нужно удалять для предотвращения ее кристаллизации в пересыщенных растворах, а моносахариды повышают калорийность и гигроскопичность получаемых продуктов ГОС. В растворе также находится инактивированный фермент, могут присутствовать остаточные белковые и минеральные компоненты лактозосодержащего сырья, соли металлов-лигандов, органические и неорганические кислоты, использованные для регулировки pH. Как правило, на первом этапе очистки удаляют неуглеводные вещества, на втором – проводят разделение углеводов по их молекулярной массе, на третьем – по заряду. Для повышения степени чистоты ГОС используют различные методы: ионообмен, адсорбцию, хроматографию, баро- и электромембранные технологии, экстракцию сверхкритическими жидкостями, кристаллизацию и осаждение, а также селективную ферментацию [12, 26].

Баромембранное разделение давно и широко применяется в пищевой промышленности и биотехнологии, т. к. обеспечивает непрерывную работу, масштабируется и позволяет настроить гибридные операции. К недостаткам таких процессов относят небольшой срок службы мембран и оборудования в целом, относительно низкие селективность и поток, возможность загрязнения мембраны (в т. ч. в результате обрастания биопленками) и явление концентрационной поляризации [26]. Микрофльтрация (размер пор мембраны – 0,1–10 мкм) в основном используется для уменьшения

количества микроорганизмов, для фракционирования и удаления частиц остатков клеток из суспензии, а также в качестве операции предварительной обработки перед ультрафильтрацией. Саму ультрафильтрацию (размер пор – 0,001–0,1 мкм) применяют для удаления макромолекул белков, а также для одновременного синтеза ГОС и фракционирования углеводов с использованием мембранного биореактора [27, 28]. Нанофильтрация (размер пор – 0,0001–0,001 мкм) позволяет удалить из раствора некоторую влагу и фракционировать углеводы с разной молекулярной массой, однако этот показатель близок для моно- и дисахаридов, поэтому очистка от них достигается лишь частично [29].

Метод селективной ферментации основан на применении микроорганизмов и / или их ферментов, способных выборочно утилизировать нежелательные углеводы во время / после биосинтеза ГОС. Эта возможность привлекает внимание ученых и производителей в силу простого аппаратного оформления, экономической эффективности и экологической безопасности. Известно применение с этой целью различных дрожжей, плесеней и молочнокислых бактерий в виде клеток или их ферментов в свободной или иммобилизованной форме [12, 26]. Если хлебопекарные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* могут довольно быстро утилизировать моносахариды, то лактозосбраживающие дрожжи *Kluyveromyces* используются для ферментации моносахаридов и лактозы с достижением высокой степени очистки ГОС [9]. Это позволило внедрить применение *Kluyveromyces* в промышленное производство.

После очистки проводят концентрирование ГОС с использованием традиционных для пищевой промышленности процессов вакуум-выпаривания с получением сиропов. Для производства порошкообразных ГОС перед распылительной сушкой вносят вещества, снижающие гигроскопичность продукта (мальтодекстрины или белки) [2].

Таким образом, выбор фермента и формы его применения, оптимизация условий биосинтеза и очистки являются наиболее важными для регулирования выхода, состава и свойств галактоолигосахаридов.

Факторы, влияющие на биосинтез галактоолигосахаридов с использованием дрожжей *Kluyveromyces*. Происхождение, структура и свойства бета-галактозидаз. Бета-галактозидазы (бета-галактозидазы, лактазы, ЕС 3.2.1.23), ферменты класса гидролаз, могут быть извлечены из разных источников: в базах данных упоминаются 420 организмов, способных вырабатывать эти ферменты [30]. При анализе патентов выявлено более 20 разных родов дрожжей-продуцентов, представители которых применялись в процессах получения ГОС [31]. Однако для промышленного производства бета-галактозидаз используют только несколько видов микроорганизмов-продуцентов, признанных безопасными, в т. ч. принадлежащих роду *Kluyveromyces* [14].

Kluyveromyces генетически близкородственны традиционным (пекарским) дрожжам *S. cerevisiae* и похожи

на них эллипсоидной формой клеток, основным способом размножения – почкованием, способностью к споруляции и гибридизации в неблагоприятных условиях. Тем не менее представители рода *Kluyveromyces* в ходе эволюции приобрели гены LAC12 и LAC4, которые кодируют пермеазу для транспортировки молекул лактозы в клетку и бета-галактозидазу для ее расщепления на глюкозу и галактозу. Это позволило им освоить новый питательный субстрат – молочное сырье. *Kluyveromyces* также отличаются более высокой устойчивостью к изменению температуры и pH, скоростью роста и накопления биомассы на многих недорогих субстратах в аэробных условиях без индукции спиртов (т. к. дрожжи *Crabtree* – отрицательные), повышенными уровнями секреции белка. Генетические инструменты регулирования экспрессии у этих дрожжей изучены, что повышает их ценность в области синтетической биологии и биотехнологии. Впрочем, и без генетических модификаций *Kluyveromyces* обладают высоким промышленным потенциалом в производстве разных белков (включая ферменты), ароматизаторов, а также в качестве пробиотиков [32]. Наиболее известные виды этого рода, *Kluyveromyces lactis* и *Kluyveromyces marxianus*, имеют международный недавно вновь подтвержденный статус безопасности QPS, рекомендуемый биологические агенты к добавлению в пищу или корма [33].

K. lactis (*Candida sphaerica*) давно применяют в качестве продуцента бета-галактозидаз, производимых в значительных объемах и востребованных на рынке для эффективного гидролиза лактозы в молочных продуктах, а также для получения олигосахаридов-пробиотиков. В последние десятилетия *K. lactis* активно использовали в качестве модельного организма для экспрессии рекомбинантных белков (около 100), исследования заболеваний и основных клеточных механизмов [34]. Другой вид, *K. marxianus* (*Kluyveromyces fragilis*, *Candida kefir*), обладает уникальной для дрожжей термотолерантностью с верхней границей 50 °C и самой высокой скоростью роста среди эукариотов. Это свойство, а также способность переключаться в анаэробных условиях на спиртовое брожение используют в производстве этанола. Благодаря международному статусу безопасности *K. marxianus* применяют для получения различных пищевых ферментов (бета-галактозидаза, бета-глюкозидаза, инулиназа и полигалактуроназа), используют как пекарские дрожжи и антихолестеринемическое средство. Среди штаммов дрожжей этого вида отмечено значительное фенотипическое и генотипическое разнообразие, что необходимо учитывать при их использовании в биотехнологии [35].

Характеристика лактазы *K. lactis*. Бета-галактозидазы дрожжей являются ферментами внутриклеточной локализации. Структура и механизмы действия лактазы *K. lactis* изучены лучше, чем ферменты других продуцентов [14]. Бета-галактозидаза штамма

K. lactis ATCC 8585 (BGAL_KLULA) относится к семейству GH2 и представляет собой гомотетрамер, каждый из мономеров которого имеет молекулярную массу 119 кДа и состоит из 1025 аминокислот. Тетрамер может диссоциировать на димеры, в растворе обе формы находятся в равновесии. Полная диссоциация на мономеры приводит к потере активности фермента. Каждый мономер включает 5 доменов, причем структура 2 и 3 доменов отличается от структуры бактериальных ферментов семейства GH2 (например лактазы *Escherichia coli*). Это может быть связано со специфичностью бета-галактозидазы *K. lactis* и ее способностью к олигомеризации. Два активных центра связывания с галактозным остатком лактозы обнаружены в узком канале внутри каждого димера [36]. Общая структура бета-галактозидазы *K. lactis* и сайт связывания, а также катионы магния и натрия, которые считаются индукторами фермента, показаны на рисунке 3.

Данные о свойствах лактаз *K. lactis* отличаются в разных публикациях и сертификатах производителей ферментных препаратов, что может быть связано с применением разных штаммов и способов производства [5, 10, 14, 22, 24]. Оптимальными условиями действия бета-галактозидазы из *K. lactis* обычно считается температура 30–40 °C и pH 6–7, активность частично сохраняется в диапазоне 25–45 °C и при pH = 5,5–8,5 [30]. Лактаза *K. marxianus* находится в растворе в основном в димерной форме, для нее характерна более высокая устойчивость к температуре (оптимум – 37 °C; минимум – 22 °C; максимум – 50 °C) и pH (оптимум – 6,8; минимум – 3,5; максимум – 10) [38].

Бета-галактозидазы из *Kluyveromyces* широко используют в молочной промышленности для гидролиза лактозы с целью получения низко- и безлактозных продуктов, необходимых людям с лактазной недоста-

точностью, а также для частичной замены сахарозы и предотвращения кристаллизации в мороженом и сгущенном молоке [10, 14]. Одновременно с гидролизом лактозы может происходить трансгалактозилирование с образованием ГОС. Реакция считается кинетически контролируемой, ее основные механизмы описаны в разделе «Основные процессы и механизмы получения галактоолигосахаридов». При этом лактоза служит как донором, так и акцептором галактозы, такие же роли может играть любой из образовавшихся олигосахаридов.

Концентрация донора галактозила как лимитирующего субстрата влияет на баланс между гидролитической и трансгалактозилирующей активностью фермента. Лактоза и *d*-галактоза могут стабилизировать общую структуру бета-галактозидазы путем связывания субстрата с его активным участком [14, 22]. Эксперименты с мечеными молекулами галактозы и глюкозы показали, что в реакциях трансгалактозилирования оба моносахарида действуют как субстраты-акцепторы. Это может быть связано с тем, что изомеры лактозы с (1→2), (1→3) и (1→6) связями образуются в результате акцепторных реакций со свободной глюкозой, а не путем ее перегруппировки в активном центре [39]. Селективность (аффинитет) бета-галактозидазы к донору и акцептору галактозы, соотношение скоростей гидролиза и синтеза, состав и структура получаемых углеводов зависят от свойств фермента и условий проведения реакций [1, 12, 13].

Кинетика реакций с лактазами *K. lactis* и условия получения максимальных выходов галактоолигосахаридов. Кинетика реакций, протекающих в растворах лактозы в присутствии бета-галактозидаз из *K. lactis*, показана на рисунке 4 (по данным собственных экспериментов, согласуются с результатами других

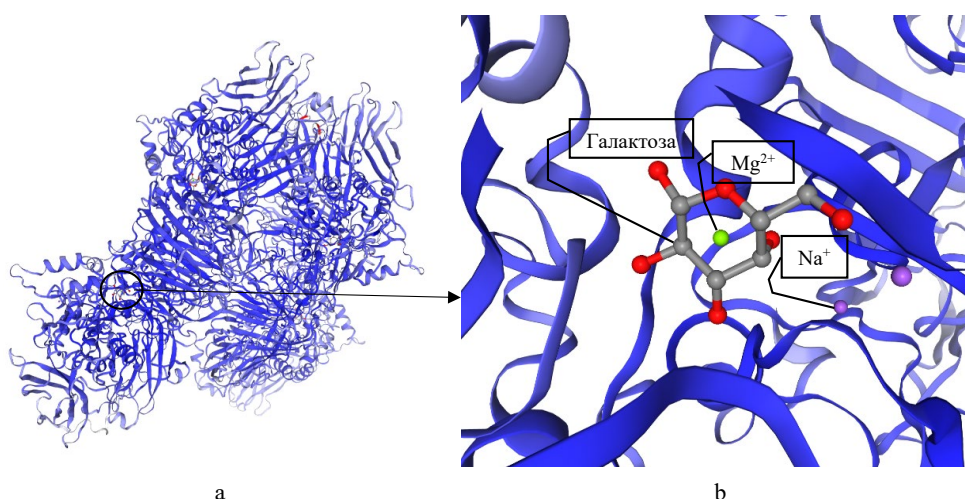


Рисунок 3. Структура бета-галактозидазы из *Kluyveromyces lactis* в комплексе с галактозой: а – общий вид; б – увеличенное изображение сайта связывания галактозы [37]

Figure 3. Structure of beta-galactosidase from *Kluyveromyces lactis* in complex with galactose: а – general view, б – galactose binding site enlarged [37]

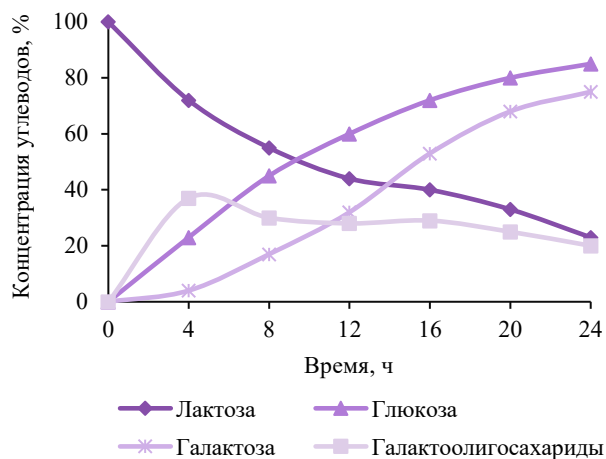


Рисунок 4. Кинетика изменения концентрации углеводов в 30 % растворе молочного сахара с ферментным препаратом HA-Lactase при 40 °C и pH 6,5

Figure 4. Carbohydrate concentrations in 30% milk-sugar solution with HA-Lactase at 40°C and pH 6.5

исследований). Трансгалактозилирование, как правило, наиболее активно протекает на первом этапе реакции, и чем больше активность фермента, тем быстрее растет концентрация ГОС. В дальнейшем образовавшаяся глюкоза начинает ингибировать трансферазную активность лактазы, и скорость гидролиза ГОС начинает превышать скорость их синтеза. Падение концентрации ГОС более выражено в чистых растворах лактозы при высоких температурах, что требует точного определения оптимальных условий выхода ГОС. Снижение концентрации лактозы обусловлено реакциями гидролиза и трансгалактозилирования и наблюдается на протяжении всей реакции, так же как и рост концентрации глюкозы и галактозы. Для глюкозы он более выражен, т. к. галактоза переносится галактозилферментным комплексом к акцепторам и участвует в образовании ГОС с разной степенью полимеризации [13, 40, 41].

В ряде работ проводили сравнение результатов синтеза ГОС с использованием бета-галактозидаз разных видов микроорганизмов. Данные об условиях максимального выхода ГОС с ферментами *K. lactis* и других видов продуцентов обобщены в таблице 1.

Лактазы *K. lactis* позволили достичь выхода ГОС 28–29 % в концентрированных 40 % растворах лактозы, этот показатель был стабильным для ферментов *K. lactis* разных производителей. Более высокий выход ГОС (48 %) получен в экспериментах с рекомбинантной бета-галактозидазой *Bacillus circulans* и 50 % растворами лактозы [39], при использовании немодифицированных ферментов и 40 % растворов лактозы он был кратковременным и на 15–19 % ниже [22, 43]. Выход ГОС с бета-галактозидазами *K. lactis* близок к результатам работы с ферментом *Aspergillus oryzae* в исследованиях [22, 44] и значительно выше, чем

с *A. oryzae*, в других публикациях [39, 41]. При этом продуктивность и степень конверсии лактозы в опытах с *K. lactis* были значительно выше, чем с *B. circulans* и *A. oryzae* [22, 42, 44].

Бактериальные лактазы показали низкую трансгалактозилирующую активность: выход ГОС был в 1,9 раза меньше при использовании фермента из бифидобактерий, из кишечной палочки – в 6,3 раза меньше, чем из *K. lactis* [44, 46]. Более низкая концентрация ГОС в опытах с бета-галактозидазами *K. lactis* чем при использовании *B. circulans* и *A. oryzae* [43] может быть обусловлена повышенным уровнем pH (7,5). Так, Reina-Posso and Gonzales-Zubiate [35] установили, что изменение pH от 6,5 до 7,5 приводило к существенному (в 1,8 раза) снижению гидролитической активности фермента *K. lactis* (Lactozym Pure 6500L, Novozymes A/S, Дания), а также к уменьшению концентрации три- и тетрасахаридов более чем в два раза. В остальных исследованиях максимальный выход ГОС был получен при pH 6,5–7 [25, 43, 45], а самое высокое значение этого показателя (41 %) – при pH 6 [41]. При синтезе ГОС были использованы широкие пределы варьирования температур – 35–50 °C (60 °C для иммобилизованной формы) и pH = 4,4–7,5, выходящие за рамки оптимальных значений для лактаз *K. lactis*.

Большинство опубликованных исследований о биосинтезе ГОС связаны с использованием бета-галактозидазы *K. lactis*. Информация о применении других видов этого рода и разных штаммов ограничена. В обзоре [13] были обобщены результаты работ по получению ГОС, выполненных до 2010 г. Неочищенные (crude) ферменты *K. marxianus* катализируют реакции трансгалактозилирования с выходом ГОС (45 % – в растворах лактозы и 24 % – в сыворотке), сопоставимым с лактазами *K. lactis* при аналогичных условиях [13]. Позже неочищенные клеточные экстракты 13 штаммов *K. lactis* и 2 штаммов *K. marxianus*, выделенных из кустарных сыров на основе овечьего и козьего молока, были протестированы для получения ГОС из лактозы (250 г/л при pH 6,5 и 6,0 ед./мл активности β-галактозидаз при 50 °C). Экстракты были получены путем механического разрушения (истирания) клеток продуцентов. Все исследованные препараты позволили синтезировать отличные от лактозы дисахариды, в т. ч. 6-галактобиозу, и трисахариды со структурой 3'-, 4'- и 6'-галактозил-лактозы. Прямую зависимость между гидролитической и трансгалактозилирующей активностью ферментов не наблюдали. Самые высокие выходы ГОС через 4 ч реакции были получены в экспериментах со штаммами *K. marxianus* O₂ и O₃ (35 и 42 % соответственно). Трансгалактозилирование с ферментами последнего штамма сопровождалось высокой степенью распада лактозы (80 %) и было более стабильным, чем при использовании других продуцентов, где концентрация ГОС резко снижалась после достижения максимума на уровне 26–32 % [47]. Известно также применение *K. marxianus* в виде целых

Таблица 1. Условия получения максимальных выходов ГОС ($Y_{\max}$, %) с использованием свободных бета-галактозидаз разных продуцентов и растворов лактозыTable 1. Obtaining maximal yields of galacto-oligosaccharides ($Y_{\max}$, %) using free beta-galactosidases from different producers and lactose solutions

Продуцент бета-галактозидазы	Ферментный препарат, производитель	$C_{\text{л}}$, %	t , °C	pH	Время, ч	$A_{\text{ф}}$, ед./г	$B_{\text{ГОС}}$, %	$K_{\text{л}}$, %	Ссылка
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Biolactasa-NL, Biocon, Испания	40	40	7,0	–	10,00	29,0	–	[22]
	Enzeco Lactase NL, EDC, США	40	40	7,0	–	10,00	29,0	–	
	Maxilact L200, DSM, Нидерланды	40	40	7,0	–	10,00	29,0	–	
	Lactozym Pure 2600L, Novozymes, Бразилия	40	40	7,0	–	10,00	28,0	–	
<i>Aspergillus oryzae</i>	Enzeco Fungal Lactase, EDC, США	40	40	4,5	–	10,00	29,0	–	–
<i>Bacillus circulans</i>	Biocon NTL 3000, Biocon, Испания	40	40	6,0	–	10,00	39,0	–	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Opti-lactase LX2, optiferm GmbH, Германия	20	45	6,5	0,7	50,00	28,7	89	
<i>Aspergillus oryzae</i>	Opti-lactase A50, optiferm GmbH, Германия	20	55	4,5	3,0	50,00	24,3	51	[39]
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Lactozym 2600L	30	40	7,0	6,0	3,75	34,9	92	
<i>Aspergillus oryzae</i>	–	30	45	4,5	8,0	3,75	19,5	70	
<i>Bacillus circulans</i>	rBgAD-D*	50	60	6,0	8,0	3,75	48,3	88	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Lactozym 3000 L HP-G, Novozymes A/S, Дания	40	40	7,5	7,0	12,00	9,0	51	[43]
<i>Aspergillus oryzae</i>	Extrakt Chemie, Германия	40	40	4,5	7,0	12,00	21,0	41	
<i>Bacillus circulans</i>	Biolactasa-NTL, Испания	40	40	7,0	5,0	12,00	41,0	49	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Maxilact LGi 5000, DSM Food Specialities Нидерланды	40	40	6,5	1,5	10,00	28,2	78	
<i>Aspergillus oryzae</i>	Maxilact A4 MG*, DSM Food Specialities B. V., Нидерланды	40	40	4,5	1,3	20,00	27,5	56	[44]
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Saphera 2600 L*, Novozymes A/S	40	40	6,5	1,5	10,00	15,0	75	
	NOLA Fit 5500,	40	40	6,5	1,3	10,00	15,0	71	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	HA-Lactase 5200, Chr. Hansen, Колумбия	40	42	6,0	3,0	1,90	41,0	70	[41]
<i>Aspergillus oryzae</i>	Enzeco Fungal Lactase, EDC, США	40	42	4,5	5,0	0,20	35,0	60	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	HA-Lactase 5200, Chr. Hansen, Колумбия	16	7	6,7	4,0	2,50	8,8	90	[45]
<i>Bacillus licheniformis</i>	NOLA Fit 5500, Chr. Hansen, Индия	16	7	6,7	4,0	2,50	8,2	60	

Примечание: $C_{\text{л}}$ – концентрация лактозы (здесь и далее – %, вес/объем); t – температура; $A_{\text{ф}}$ – активность фермента; $B_{\text{ГОС}}$ – максимальный выход ГОС, в % от исходной лактозы; $K_{\text{л}}$ – конверсия лактозы (гидролиз + трансгалактозилирование, в % от исходной лактозы); * – рекомбинантный фермент.

Note: $C_{\text{л}}$ – lactose concentration (% weight/volume); t – temperature; $A_{\text{ф}}$ – enzyme activity; $B_{\text{ГОС}}$ – maximal yield of galacto-oligosaccharides, % to initial lactose; $K_{\text{л}}$ – lactose conversion (hydrolysis + transgalactosylation, % to initial lactose); * – recombinant enzyme.

клеток и в иммобилизованной форме [48–51], которое будет рассмотрено в разделе «Формы применения бета-галактозидаз».

Состав и структура галактоолигосахаридов, полученных с лактазами *K. lactis* и других продуцентов. Состав ГОС также зависит от источника бета-галактозидазы (рис. 5). Хотя во всех трех смесях более половины от общего содержания ГОС занимают трисахариды, в случае применения ферментов *A. oryzae* эта

фракция доминирует (более 90 %). Отличительной особенностью продуктов, полученных с использованием бета-галактозидаз *B. circulans*, является заметно более высокая концентрация тетрасахаридов (около 30 %) и появление в составе олигосахаридов со степенью полимеризации 5. Для ГОС, синтезированных с участием лактазы *K. lactis*, характерна высокая доля дисахаридов с формулами $[\text{Gal-}\beta(1\rightarrow6)\text{-Glc}]$ (аллолактоза), $[\text{Gal-}\beta(1\rightarrow6)\text{-Gal}]$ (галактобиоза), $[\text{Gal-}\beta(1\rightarrow4)\text{-Gal}]$



Рисунок 5. Состав ГОС в образцах, полученных с использованием бета-галактозидаз разных продуцентов (средние значения рассчитаны по [43, 47, 53, 53])

Figure 5. Compositions of galacto-oligosaccharides in samples obtained using beta-galactosidases from different producers, mean values as in [43, 47, 53, 53]

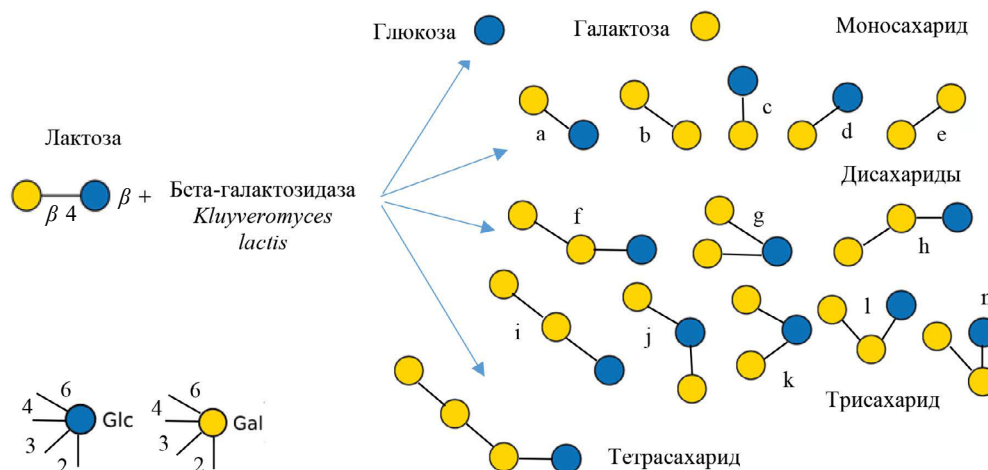


Рисунок 6. Возможные продукты биотрансформации лактозы в присутствии бета-галактозидазы *Kluyveromyces lactis* (обобщение данных из [4, 23–25, 39, 52, 53])

Figure 6. Possible products of lactose biotransformation with *Kluyveromyces lactis* beta-galactosidase, summary of data from [4, 23–25, 39, 52, 53]

или [Gal- β (1 $\rightarrow$ 3)-Gal], которые отличаются от лактозы [Gal- β (1 $\rightarrow$ 4)-Glc]. Если в начале 20 в. пребиотический эффект ГОС объясняли в основном три- и тетрасахаридами [13], то проведенные в последние годы исследования показали, что такие дисахариды могут проявлять пребиотические свойства, аналогичные более сложным олигосахаридам [3].

Не только дисахаридная, но и более сложные фракции ГОС могут содержать разные по мономерному составу и связям углеводы. Возможные структуры углеводов в смесях, полученных с использованием бета-галактозидазы *K. lactis*, представлены на рисунке 6.

Группа дисахаридов содержит 5 различных углеводов, два из которых состоят только из остатков галактозы, в основном соединенных β -(1–6), реже с β -(1–3) связями (структуры b и e соответственно), а три – из галактозы и глюкозы с β -(1–6), β -(1–3) и β -(1–2) связями (a, c, d). Среди трисахаридов, синтезированных

ных лактазой *K. lactis*, обнаружено 8 разных структур, содержащих 2 остатка галактозы, соединенных между собой преимущественно β -(1–6) связями (f, i, l, m), а с глюкозой – β -(1–4) (f, g, h) и β -(1–6) связями (g, i, j, k). Тетрасахарид, чаще всего присутствующий в смеси, имеет только β -(1–6) связи между тремя остатками галактозы и β -(1–4) связь с глюкозой. Лактаза одного из штаммов *K. marxianus* при синтезе ГОС давала в основном тетрасахариды [51]. Концентрация ГОС со степенью полимеризации 2 и 4 неуклонно увеличивались с течением времени, а концентрация трисахаридов достигала максимального значения, за которым следовало ее снижение. Такое поведение объясняется обратимостью реакции образования трисахаридов и их участием в образовании тетрасахаридов [41].

Связи β -(1–6) и β -(1–4) характерны для ГОС, синтезированных не только благодаря лактазам *K. lactis*, но и другим, полученным из *A. oryzae* или *Bifido-*

bacterium bifidum. Бета-галактозидаза *B. circulans* катализирует формирование β -(1–4) и β -(1–3), а полученная из лактобацилл – β -(1–6) и β -(1–3) связи [2, 22, 23, 39, 52]. Это важно, т. к. тип гликозидных связей и степень полимеризации олигосахаридов влияют на их устойчивость к пищеварительным ферментам. После употребления здоровыми мужчинами 5 г ГОС около 24 % гидролизовалось к моменту достижения проксимального отдела толстой кишки, при этом ГОС со степенью полимеризации ≥ 3 остались в нерасщепленном виде, а степень усвоения дисахаридов зависела от их структуры и была самой высокой для смеси углеводов β -D-гал-(1→2)-D-глю + β -D-гал-(1→3)-D-глю и самой низкой для β -D-гал-(1→4)-D-гал [54]. ГОС с преобладающими связями β (1→6) в 1,9 раза, а с β (1→4) в 1,4 раза хуже переваривались ферментами мембраны щеточной каймы тонкого кишечника, чем углеводы со связями β (1→3) [55]. Фракции со степенью полимеризации 2 и 3 неочищенного препарата ГОС показали более выраженное влияние на сохранение целостности эпителия кишечника, чем очищенный образец [56]. Возможно, это связано с оставшейся лактозой, поскольку смесь ГОС β -(1–4), содержащая этот дисахарид, повышала экспрессию генов, ответственных за синтез слизи бокаловидными клетками кишечника. Смесь без лактозы не оказывала такого действия [57].

Таким образом, бета-галактозидазы дрожжей рода *Kluyveromyces* имеют сложную структуру и могут одновременно катализировать реакции гидролиза и трансгалактозилирования. От соотношения скоростей этих реакций зависит выход и состав ГОС. Более изучены и чаще применяются лактазы *K. lactis*, образованные ими ГОС обычно имеют степень полимеризации 2 и 3. Кроме наиболее широко применяемых свободных очищенных ферментных препаратов, бета-галактозидазы могут также использоваться в виде цельноклеточных ферментов в иммобилизованной форме и совместно с другими ферментами.

Формы применения бета-галактозидаз. Целые клетки как источники ферментов для синтеза галактоолигосахаридов. Как было показано выше, источниками бета-галактозидаз могут быть как целые клетки, так и ферментные препараты разной степени очистки. Лактазы дрожжей являются эндоферментами, поэтому клетки должны быть полностью или частично разрушены с помощью физического, химического или механического воздействия. Многоэтапная очистка от клеточных компонентов и последующее концентрирование приводят к высокой стоимости ферментов. Более дешевым способом извлечения дрожжевых бета-галактозидаз является пермеабиллизация, направленная на частичное разрушение клеточных оболочек. Для этого обычно используют этиловый спирт или другие органические растворители, повреждающие фосфолипидный слой цитоплазматической мембраны. Так как фермент остается в небольшом объеме клетки и защищен ее поверхностными структурами, вероят-

ность его диссоциации и инактивации уменьшается [14]. Более того, поверхность клеточной стенки дрожжей рассматривается как матрица для иммобилизации ферментов, которые могут приобретать повышенную устойчивость к изменениям температуры, pH, органическим растворителям и протеазам [58].

Клетки штамма *K. lactis* СЕСТ 1931 были пермеабиллизированы 50 % этанолом и использованы для синтеза ГОС в сравнении с двумя коммерческими бета-галактозидазами из *K. lactis* (Lactozym 3000 L HP G и Maxilact LGX 5000). Цельноклеточный фермент был более термостабильным при 40 °С и давал при этой температуре максимальный выход ГОС (44 %). Это на 4–8 % выше и значительно быстрее (уже через 6 ч реакции), чем с очищенными ферментами (через 22 ч) при тех же условиях (в 40 % растворах лактозы при pH 6,8 и активности фермента 1,2 ед./мл) [53]. Проницаемость мембран другого штамма, *K. lactis* CICC 1773, была повышена обработкой 30 % этанолом для ускорения массопереноса субстрата и высвобождения олигосахаридных продуктов, после чего клетки использовали для синтеза ГОС. Максимальный выход ГОС (35 %) был получен после внесения пермеабиллизированных клеток в концентрации 18,9 г/л в 40 % растворы лактозы при pH 8 (значение, существенно отличающееся от всех других работ, где оптимум pH находился в пределах 6,5–7) и проведении реакции при 40 °С в течение 1,5 ч [59].

В ряде работ показана эффективность применения дрожжей другого вида, *K. marxianus*, в форме цельноклеточных биокатализаторов для синтеза ГОС [48–51]. Среди 13 исследованных штаммов *K. marxianus*, выделенных из различных молочных продуктов, были отобраны два – *K. marxianus* 904 и t3 (источники – белый сыр и йогурт соответственно, оба продукта из коровьего молока) с повышенной активностью общей конверсии лактозы (гидролиз и трансгалактозилирование, до 98 %) и высоким выходом три- и тетраолигосахаридов. Использование этих штаммов позволило достичь выхода ГОС на уровне 50 и 43 % соответственно после добавления раствора лактозы с концентрацией 40 г/л к пермеабиллизированным толуолом клеткам дрожжей и проведения реакции при pH 7 и 28 °С. Эти же штаммы дали бета-галактозидазы с наиболее высокой гидролитической активностью, хотя третий штамм с такой же активностью, *K. marxianus* 9016, показал выход ГОС почти в 2 раза меньше [48].

Бета-галактозидаза пермеабиллизированных этанолом клеток *K. marxianus* NCIM 3551 имела более высокую трансгалактозилирующую активность, чем у трех других штаммов дрожжей рода *Kluyveromyces*, и самую низкую гидролитическую активность. При использовании этого штамма в виде цельноклеточного биокатализатора для синтеза ГОС был достигнут максимальный выход ГОС (36 %) при конверсии лактозы 80 % и производительности 24 г/л·ч, (при концентрации лактозы 20 % (мас./об.), 40 °С, pH 6,5 и 1,2 ед./мл после 3 ч реакции). Продукты реакции, определенные

с помощью ВЭЖХ и масс-спектрометрии, представляли собой в основном три- и тетрасахариды, последние доминировали в смеси [51].

Пермеабелизованные клетки *K. marxianus* NCIM 3551 в свободной форме показали на 16 % более высокую гидролитическую активность бета-галактозидазы и дали выход ГОС почти на 40 % больше, чем иммобилизованные на альгинатной матрице [49]. Полученная с этим же продуцентом смесь, содержащая около 18 % ГОС, 16 % – лактозы и 67 % – моносахаридов, была подвергнута нанофильтрации. Для этого использовали спирально-навитые мембраны из разных материалов – полисульфона, ацетата целлюлозы и полиэфирсульфона. Последний показал наилучшие результаты по очистке смеси ГОС от моно- и дисахаридов. Обработка при 50 °С и давлении 15 бар позволила получить высокую чистоту ГОС (около 89 %). Полученный препарат показал пребиотическую активность *in vitro* [50].

Методы иммобилизации ферментов и их применение в синтезе галактоолигосахаридов. К наиболее известным способам повышения эффективности действия ферментов относится иммобилизация, которая позволяет не только их восстанавливать и многократно использовать, но и повысить стабильность, селективность, расширить диапазон pH и температур проводимых реакций. Способы иммобилизации бета-галактозидаз дрожжей *Kluyveromyces* можно классифицировать по формам применения фермента

и образования связи с ним, носителям и веществам основы (матрицы), а также видам связывающих агентов (рис. 7) [49, 60–67].

Наиболее часто для иммобилизации бета-галактозидазы *K. lactis* применяют ковалентное связывание, активированное глутаральдегидом. Такой метод с использованием полимера полисилоксана-поливинилового спирта в качестве матрицы позволил получить максимальный выход трисахаридов на уровне 2,5 % в 27 % растворе лактозы при pH 7,1 и 40 °С. Дальнейшая оптимизация соотношения объемов реагентов и носителя дала возможность повысить трансгалактизирующую активность фермента и содержание трисахаридов до 4,4 %, а также синтезировать около 1,4 % тетрасахаридов [60].

Так как глутаральдегид не одобрен для применения в пищевых продуктах, в ряде работ он был заменен генипином, сшивающим агентом растительного происхождения [14]. В исследовании [66] генипин использовали как продуцент бета-галактозидазы для синтеза ГОС с целью иммобилизации клеток *K. lactis* CGMCC 2.1494. Фермент в иммобилизованных клетках стал более устойчив к температуре и органическим растворителям по сравнению со свободными клетками. Галактоза из растений под воздействием фермента была полимеризована в ГОС с максимальным выходом на уровне 49 %. Иммобилизованные клетки могли быть использованы многократно: в течение 20 циклов синтеза ГОС активность фермента оставалась выше 70 %.

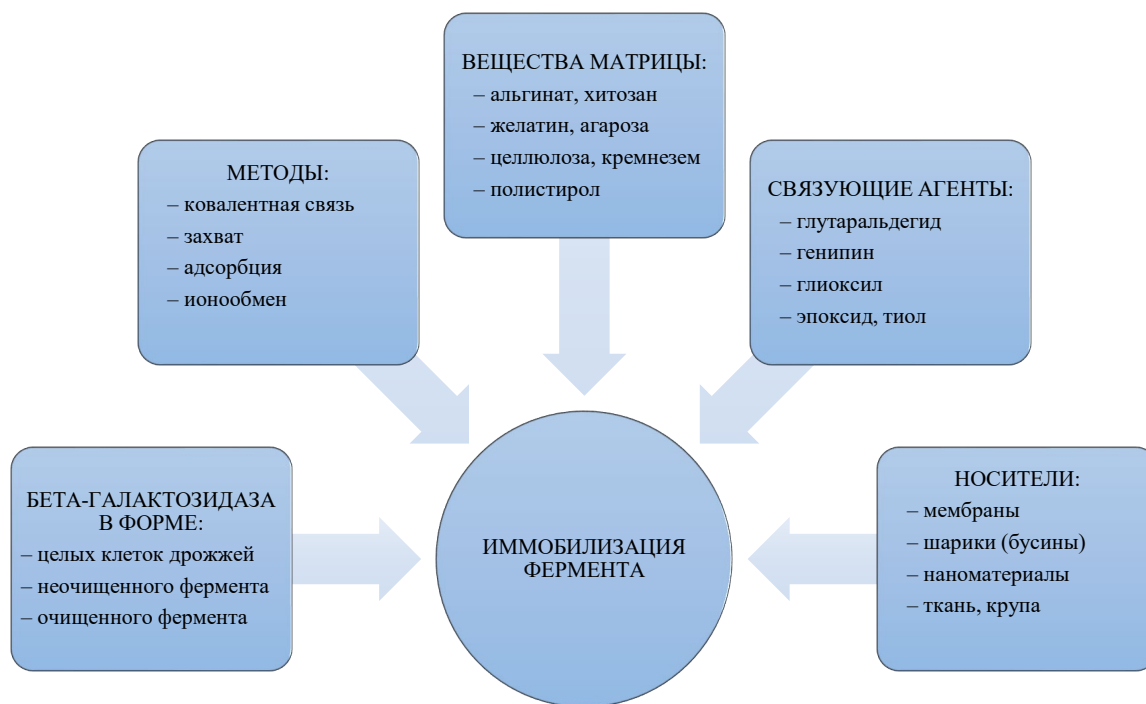


Рисунок 7. Методы и вещества, применяемые для иммобилизации бета-галактозидаз *Kluyveromyces*

Figure 7. Methods and substances used to immobilize *Kluyveromyces* beta-galactosidases

В качестве безопасной основы для иммобилизации ферментов в пищевой промышленности часто применяют альгинаты, получаемые из морских водорослей. Клетки *K. marxianus* NCIM 3551 использовали для непрерывного синтеза ГОС в свободной форме и после иммобилизации альгинатом натрия. Процессы проводили в реакторе с уплотненным слоем, реакцию – в 20 % растворах лактозы. После иммобилизации активность бета-галактозидазы снизилась по сравнению со свободными клетками, но ее термостабильность увеличилась. Более высокие показатели по выходу ГОС (72 г/л) и удельной производительности ГОС (60 г/л·ед.) были получены в периодическом процессе со свободными клетками. С иммобилизованными клетками снижение этих показателей составило 41 %. Повторение реакции в течение 10 циклов позволило достичь почти одинаковой производительности для свободных и иммобилизованных клеток, а использование последних для непрерывного синтеза ГОС в течение 10 дней и оптимизация скорости потока – повысить выход ГОС до 64 г/л [49].

Иммобилизацию бета-галактозидазы *K. lactis* (Maxi-lact LGi 5000, DSM, Нидерланды) на кальциево-альгинатных бусинах, в т. ч. обработанных конкавалином (белком растительного происхождения) в качестве связующего агента, применяли для биоконверсии лактозы в разных видах сырья. Иммобилизованный на альгинате фермент был использован в дальнейших опытах, потому что имел максимальную активность в более широком диапазоне ($\text{pH} = 7,0\text{--}7,5$), чем свободный ($\text{pH}_{\text{опт}} = 6,5$) или в опытах с конкавалином ($\text{pH}_{\text{опт}} = 6,0$). Выход ГОС в 5 % растворах лактозы при 37 °C и $\text{pH} 7,0$ достиг максимума через 2,5 ч и составил 44 % [64]. Трансгалактозилирование шло быстрее в подсырной сыворотке: уже через 1,5 ч реакции выход ГОС в сыворотке был в 1,5 раза больше, чем в растворе лактозы (применение сыворотки в качестве сырья будет рассмотрено в разделе «Особенности получения галакто-олигосахаридов в молоке, сыворотке и пермеатах»).

Проблемой иммобилизации бета-галактозидазы *K. lactis* является необходимость сохранения ее олигомерной структуры, при этом относительно крупный размер фермента требует определенного диаметра пор матрицы, что может снижать производственные характеристики. Альтернативой может быть иммобилизация агрегатов ферментов или непористых наноматериалов [14]. Полистирольные нановолокна с локальной гидрофобностью на поверхности, изготовленные методом электропрядения, были функционализированы для иммобилизации бета-галактозидазы *K. lactis* с помощью метода химического окисления. Это позволило значительно улучшить адсорбцию (до 3100 мг/г нановолокна) и стабильность фермента (до 80 % его исходной активности). Свободная бета-галактозидаза демонстрировала более высокую гидролитическую активность, чем иммобилизованная, при этом последняя проявляла выраженную способность к транс-

лактозилированию: через 60 мин реакции выход ГОС достигал 28 %, что в 3 раза больше, чем в опытах со свободным ферментом [61].

Позже эта группа исследователей с помощью сканирующей электронной микроскопии и флуоресцентного анализа выявила гомогенность иммобилизации, тонкослойную структурную конформацию и биохимические функции этого нанобиокатализатора. Благодаря тому, что он обеспечивал контролируемое время контакта продуктов и субстратов на поверхности нановолокна, был достигнут высокий выход ГОС (41 %) при конверсии лактозы 88 %, когда использовали 30 % растворы лактозы и короткое (около 1 мин) время пребывания в дисковом колоночном реакторе. Такой выход ГОС был в 1,3 раза выше, чем этот показатель при использовании спирального реактора, и в 2 раза выше, чем при использовании периодического процесса с такими же нановолокнами и исходной концентрацией лактозы [62].

В исследовании Chenafa *et al.* [65] подобные полистирольные нановолоконные мембраны были функционализированы оксидом графена и 3-аминопропилтриэтоксисиланом. Такая обработка позволила улучшить адсорбцию фермента и его стабильность при хранении, самую высокую активность наблюдали при 50 °C и $\text{pH} 4,5$. В этих условиях получены более высокие показатели выхода ГОС (72 %) и конверсии лактозы (81 %), чем при использовании свободного фермента.

Характеристики процесса могут быть улучшены путем одновременного проведения синтеза ГОС и селективного удаления продуктов реакции в мембранном биореакторе. При использовании непрерывного процесса ферментации 30 % растворов лактозы бета-галактозидазой Lactozym Pure 6500L (Novozymes A/S, Дания) из *K. lactis* в ультрафильтрационном мембранном биореакторе, сопряженном с системой нанофильтрационного разделения, выход ГОС достигал 33 % с чистотой около 57 %. Ren *et al.* [67] получили математические модели, достоверно описывающие изменение соотношения между выходом и чистотой олигосахаридов в процессе фильтрации.

Присутствие в растворе высокомолекулярной бета-галактозидазы *K. lactis* с ди- и тетрамерной структурой в сочетании с высокой общей концентрацией углеводов может приводить к изменению характеристик массопереноса [28]. Если ацетат-целлюлозная мембрана полностью пропускала моно- и дисахариды и задерживала 25 % трисахаридов из углеводных растворов, то в присутствии ферментного препарата Lactozym 3000L HP-G (Novo Nordisk A/S, Дания) трисахариды задерживались полностью, а ди- и моносахариды – частично (на 80 и 40 % соответственно). По-видимому, фермент формирует на мембране слой, который выполняет каталитические и селективно задерживающие функции, благодаря чему снижается ингибирующий эффект моносахаридов. При совмещении процессов синтеза и мембранного фракционирования при давлении

20 бар выход ГОС был увеличен более чем в 1,5 раза по сравнению с отдельно проведенной ферментацией в аналогичных условиях (в 15 % растворах лактозы при 40 °С; pH 6,5; активности фермента 10 ед./мл и скорости потока 1,7 м/с) [28].

Иммобилизация была использована в процессах получения ГОС с применением молочного сырья и нескольких ферментов [63, 64]. Такой подход представляет особый интерес, поэтому далее будет рассмотрен подробнее.

Комбинирование ферментов и генетическая модификация бета-галактозидаз для получения галактоолигосахаридов. Так как бета-галактозидазы разных видов и штаммов продуцентов значительно отличаются по свойствам, можно предположить, что их совместное применение дает преимущества в плане ускорения процессов, расширения диапазона условий для проведения трансгалактозилирования и улучшения его результатов. Например, добавление закваски термофильного стрептококка в суспензию *K. marxianus* позволило сократить как время автолиза дрожжей (в 4 раза, за счет молочной кислоты), так и время получения максимального выхода ГОС (в 3 раза, благодаря комбинации ферментов и повышенному содержанию галактозы) при проведении биосинтеза в 15 % растворах лактозы при 52 °С. При последующем увеличении концентрации лактозы до 25 % получен максимальный выход ГОС (42,5 %) после ферментации в течение 12 ч [68].

Одновременный синтез ГОС в присутствии двух ферментов из *K. lactis* (Opti-lactase LX2, optiferm GmbH, Германия) и *A. oryzae* (Maxilact A4, DSM Food Specialties B.V., Нидерланды) при соотношении 1:1 и активности 50 ед./г, pH 6,5 и 45 °С в 20 % растворах лактозы показал такой же максимальный выход ГОС (24,6 %), как и при использовании отдельных ферментов. Последовательное применение ферментных препаратов (сначала из *A. oryzae*, затем из *K. lactis*) привело к увеличению выхода ГОС на 8 %, в основном за счет образования отличных от лактозы дисахаридов. Обратная последовательность внесения этих ферментов дала снижение ди- и трисахаридов, но позволила повысить долю ГОС со степенью полимеризации 4 [69].

Вышеописанные ферментные препараты (раздельно) использовали в экспериментах с дополнительным внесением глюкозооксидазы и каталазы для окисления глюкозы до глюконовой кислоты одновременно с биосинтезом ГОС при похожих условиях реакции, кроме более низкой температуры – 25 °С. Для поддержания стабильного уровня pH и осаждения глюконата кальция применяли 40 % раствор CaCO₃, которого потребовалось в 17,5 раз больше в опытах с ферментом *K. lactis*, чем с *A. oryzae*. Возможно, наличие ионов кальция стало причиной более низкой конверсии (на 37 %) лактозы в трехферментной системе с бета-галактозидазой *K. lactis*, чем в контрольных образцах (без глюкозооксидазы и каталазы) через 24 ч ферментации. Опытные

образцы отличались также более низким содержанием дисахаридов и полным отсутствием глюкозы, что приводило к снижению калорийности полученной смеси, но имели такое же содержание ГОС (около 22 %), что и контрольные образцы [70].

Различные комбинации коммерческих бета-галактозидаз из *K. lactis*, *A. oryzae* и *B. bifidum* (названия препаратов, условия и результаты синтеза ГОС при раздельном использовании приведены в табл. 1, источник [44]) применяли для получения ГОС в 40 % растворах лактозы при 40 °С. При последовательном применении ферментов из *K. lactis* (активность 10 ед./мл; pH 6,5; время реакции – 90 мин и последующая инактивация) и *B. bifidum* (при такой же активности и pH, 240 мин) максимальный выход ГОС (28,8 %) был близок к полученному в опытах с первым ферментом и почти в 2 раза выше, чем в опытах со вторым. В составе ГОС доминировали дисахариды 6-галактобиоза, аллолактоза и трисахарид 6-галактозиллактоза. При этом существенно повысилась степень конверсии лактозы – на 13 % по сравнению с первым ферментом и на 20 % по сравнению со вторым, остаточное содержание лактозы составило около 5 %. Самая высокая концентрация ГОС (139 г/л) была получена при последовательном применении бета-галактозидаз *A. oryzae* (активность 20 ед./мл; pH 4,5; 75 мин) и *K. lactis* (активность 10 ед./мл; pH 6,5; 255 мин), что превысило концентрацию ГОС, полученную в опытах с отдельными ферментами на 19 и 37 % соответственно. Основным компонентом ГОС был трисахарид 6-галактозиллактоза. Остальные сочетания ферментов не привели к существенному увеличению выхода ГОС, но в 11 из 13 примененных комбинаций было обнаружено значительное повышение конверсии лактозы по сравнению с отдельными ферментами [44].

Препараты бета-галактозидаз из *K. lactis* и *A. oryzae* применяли не только раздельно (названия препаратов, условия и результаты синтеза ГОС при раздельном использовании приведены в табл. 1, источник [41]), но и совместно в соотношении 1:1. Сочетание ферментов дало более высокий выход ГОС (около 43 % через 3 ч), чем их отдельное применение (41 % через 3 ч и 35 % через 5 ч из *K. lactis* и *A. oryzae* соответственно) в 40 % растворах лактозы при 42 °С. Основными компонентами всех трех смесей были трисахариды (около 20 %), однако в опытах с ферментами из *A. oryzae* и сочетанием ферментов доля тетрасахаридов была в 2 раза больше (около 10 %), чем из *K. lactis*. Полученные авторами кинетические модели более точно описывали процессы трансгалактозилирования в растворах лактозы с отдельными ферментами (достоверность $R = 0,99$), чем с их комбинированием ($R = 0,98$) [41].

Для удаления глюкозы из смеси ГОС, полученной с использованием НА-Lactase 5200 (Chr. Hansen, Колумбия) из *K. lactis* и 40 % растворов лактозы, было предложено дополнительное внесение глюкозооксидазы

Gluzyme из *A. oryzae*, катализирующей окисление глюкозы до глюконовой кислоты. Кроме того, был оценен эффект ультразвука (при 20 кГц и 23 Вт/см²) на результаты ферментации. Одновременное внесение бета-галактозидазы и глюкозооксидазы привело к снижению скорости трансгалактозилирования, а последовательное их применение позволило предотвратить распад ГОС. Самые высокие выходы ГОС (49 %) и глюконовой кислоты (28 %) получены в опытах с последовательным применением ферментов и обработкой ультразвуком через 2 ч реакции. Ультразвуковая обработка не повлияла на бета-галактозидазу, но привела к увеличению активности глюкооксидазы [71].

Методы геной инженерии могут быть использованы для понимания роли аминокислотных остатков в активном центре бета-галактозидаз и механизмов специфичности их действия при синтезе ГОС [1]. Целью исследования [72] было усиление конститутивной экспрессии бета-галактозидазы для улучшения реакции трансгалактозилирования. Для этого дикий штамм *K. lactis* GG799 подвергли мутации путем применения подхода, основанного на нокауте генов пути Лелуара, связанного с метаболизмом галактозы. В результате были получены мутанты gal1 – со сниженной активностью киназы, gal7 – со сниженной активностью трансферазы и штамм с двойным нокаутом – gal1 и gal7. Полученные из них бета-галактозидазы показали более высокую гидролитическую активность (8, 9 и 11 ед./мл соответственно), чем дикий штамм (7 ед./мл), а также дали в 2,0; 2,7 и 3,5 раза соответственно более высокий выход ГОС (по сравнению с ферментом дикого штамма (6,3 %), в 25 % растворах лактозы). Авторы предположили, что экспрессия бета-галактозидазы зависит от внутриклеточной концентрации галактозы как индуктора во время ранней стационарной фазы.

Хотя генетические модификации могут приводить к желательным изменениям свойств ферментов, ГМО вызывают опасения в силу своей недостаточной изученности и потенциальной опасности для здоровья человека. В качестве альтернативы этим методам можно рассматривать гибридизацию дрожжей, которая происходит естественным образом в природе. Гибридизация штаммов *K. lactis*, которые содержат различные локусы LAC, позволила получить гибриды с повышенной интенсивностью сбраживания лактозы [16, 17]. Подобные работы можно проводить и с близкородственным видом, *K. marxianus*, генетика которого хорошо изучена [15, 35]. Так как гидролитическая активность связана с трансгалактозилирующей, можно предположить, что бета-галактозидазы некоторых гибридных штаммов могут давать более высокие выходы ГОС. Это предположение требует дополнительных исследований.

Особенности получения галактоолигосахаридов в молоке, сыворотке и пермеатах. В последнее десятилетие для получения ГОС все чаще используют разные виды молочного сырья, от молока и сыворотки

до пермеатов, получаемых баромембранными методами. Прямой синтез ГОС в таком сырье без дальнейших операций очистки дает возможность получать новые недорогие молочные продукты и добавки, обогащенные пребиотиками [20]. ГОС могут быть синтезированы в процессе гидролиза лактозы при получении молочных продуктов для людей с непереносимостью этого углевода. В промышленном производстве безлактозных продуктов чаще всего применяют бета-галактозидазы *K. lactis* благодаря их доказанной безопасности, высокой гидролитической активности и тому, что молочные среды являются их обычной средой обитания [19].

Данные о примененных ферментах *K. lactis* и других продуцентах, если они использовались в тех же работах для сравнения, максимальных выходах ГОС и условиях их получения в молочном сырье приведены в таблице 2.

Биосинтез ГОС в обезжиренном молоке зависел от источника фермента и температуры. При использовании лактазы из *K. lactis* выход ГОС (около 15 %) был в 1,5 раза больше при 40 °С, чем при 4 °С, и в 3,6 раза больше, чем с ферментом из *A. oryzae* в тех же условиях. При 4 °С все бета-галактозидазы сохраняли свою гидролитическую и трансгликозилирующую активность, хотя реакции протекали медленнее, чем при 40 °С. ГОС, полученные с лактазой из *K. lactis*, содержали 6-галактобиозу, аллолактозу и 6'-О-β-галактозил-лактозу. С этим ферментом была достигнута самая высокая степень конверсии лактозы, при обеих температурах этот показатель более чем в 2 раза превышал значения, полученные с бета-галактозидазами из *A. oryzae* и *B. circulans* [18].

Сгущение обезжиренного молока не привело к существенному повышению выхода ГОС по сравнению с натуральным, но даже при 7 °С конверсия лактозы достигала 95 % [45]. В козьем молоке при использовании другого фермента из *K. lactis* были получены низкие значения выходов ГОС и конверсии лактозы (6,2 и 13,0 % соответственно), и если концентрацию ГОС удалось немного увеличить в молочном пермеате и смеси молока с пермеатом, то конверсия лактозы осталась на том же низком уровне. Трансгалактозилирование в этих видах сырья протекало лучше при 37 °С, чем при 40 и 43 °С. Полученные смеси с пребиотиками использовали для получения кисломолочного продукта смешанного брожения (кефир), при этом сквашивание в них проходило быстрее, чем в молоке [73]. Добавление в восстановленное обезжиренное молоко сахара и / или кукурузного сиропа и разных бета-галактозидаз из молочнокислых бактерий и *K. lactis* позволило синтезировать смесь галактоолигосахаридов, пока неидентифицированных, но способных стимулировать анаэробный рост *Bifidobacterium breve* [76].

В сыворотке реакция трансгалактозилирования протекала активнее, чем в молоке. Ферменты из *K. lactis* дали более высокие выходы ГОС (около 30 %) и конверсию лактозы (около 90 %), чем лактазы из *A. oryzae*

Таблица 2. Условия получения максимальных выходов ГОС ($Y_{\max}$, %) с использованием бета-галактозидаз разных продуцентов и молочного сырьяTable 2. Conditions for obtaining maximal yields of galacto-oligosaccharides ($Y_{\max}$, %) using beta-galactosidases from different producers and dairy raw materials

Продуцент лактазы	Ферментный препарат, производитель	Вид сырья	C _л , %	t, °C	pH	Время, ч	A _ф , Ед/г	B _{ГОС} , %	K _л , %	Ссылка
Молоко										
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Lactozym Pure 6500 L, Novozymes A/S, Дания	обезжиренное молоко	4,6	4,0	6,7	5,0	29,0	10,4	94	[18]
			4,6	40,0	6,7	1,0	29,0	15,2	95	
<i>Aspergillus oryzae</i>	Lactase F, Amano, Япония		4,6	4,0	6,7	1,5	2,0	9,1	41	
			4,6	40,0	6,7	> 78,0	2,0	4,2	43	
<i>Bacillus circulans</i>	Biolactase NTL-CONC, Biocon, Испания		4,6	4,0	6,7	2,5	13,0	17,6	44	
			4,6	40,0	6,7	0,75	13,0	16,5	38	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	HA-Lactase 5200, Chr. Hansen, Колумбия	сгущенное обезжиренное молоко	16,0	7,0	6,7	4,0	9,5	12,0	95	[45]
<i>Kluyveromyces lactis</i>	GODO-YNL2, Danisco, Дания	козье молоко	4,1	37,0	–	0,3	5,0	6,2	13	[73]
		МФ+УФ-пермеат	4,3	37,0	–	0,5	5,0	8,5	13	
		смесь козьего молока и его МФ+УФ-пермеата 60:40	4,2	37,0	–	0,3	5,0	6,9	13	
Сыворотка										
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Maxilact LGi 5000, DSM, Нидерланды	подсырная сыворотка	4,3	37,0	7,0	3,0	5,0*	63,1	–	[64]
		подсырная сыворотка + лактоза	40,0	46,0	7,0	3,0	5,0*	17,7	61	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Opti-lactase LX2, optiferm GmbH, Германия	сладкая сыворотка	20,0	45,0	6,5	2,0	50,0	32,6	88	[42]
		кислая сыворотка	20,0	45,0	6,5	3,5	50,0	33,5	89	
<i>Aspergillus oryzae</i>	Opti-lactase A50, optiferm GmbH, Германия	сладкая сыворотка	20,0	55,0	4,5	3,0	50,0	24,9	54	
		кислая сыворотка	20,0	55,0	4,5	3,0	50,0	24,5	55	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Kerry Group plc, Ирландия	йогуртная сыворотка	3,1	35,0	7,2	1,5	0,9	23,7	76	[74]
<i>Aspergillus oryzae</i>	Sigma-Aldrich, США		20,0	45,0	4,5	7,0	20,0	23,4	52	
<i>Thermo-thielavioides terrestris</i>	Получен и очищен авторами статьи		20,0	50,0	4,0	7,0	40,0	25,7	49	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Kerry Group plc, Ирландия	подсырная сыворотка	15,0	35,0	7,2	5,0	0,9	21,7	96	[75]
		йогуртная сыворотка	3,1	35,0	7,2	1,5	4,2	23,7	76	
<i>Aspergillus oryzae</i>	Sigma-Aldrich, США	подсырная сыворотка	15,0	45,0	4,5	1,0	13,0	17,9	36	
		йогуртная сыворотка	15,0	45,0	4,5	10,0	6,7	14,9	31	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	HA-Lactase 5200, Chr. Hansen, Колумбия	подсырная сыворотка	40,0	42,0	6,0	1,0	1,9	30,0	75	[41]
<i>Aspergillus oryzae</i>	Enzeco Fungal Lactase, EDC, США		40,0	42,0	4,5	5,0	0,9	35,0	65	

Продолжение таблицы 2

Продуцент лактазы	Ферментный препарат, производитель	Вид сырья	C _л , %	t, °C	pH	Время, ч	A _ф , Ед/г	B _{ГОС} , %	K _л , %	Ссылка
Пермеат										
<i>Kluyveromyces lactis</i>	HA-Lactase 5200, Chr. Hansen, Колумбия	пермеат подсырной сыворотки	40,0	42,0	6,0	2,0	1,9	45,0	92	[41]
<i>Aspergillus oryzae</i>	Enzeco Fungal Lactase, EDC, США		40,0	42,0	4,5	5,0	0,9	47,0	62	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Lactozyme 2600 L, Novozymes	пермеат	30,0	35,0	7,0	2,0	50,0	25,0	89	[46]
<i>Aspergillus oryzae</i>	Merck, Германия		30,0	35,0	7,0	8,0	50,0	15,0	41	
<i>Escherichia coli</i>	Worthington Biochemical Corp., США		30,0	35,0	7,0	12,0	50,0	4,0	39	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	HaLactase 5200, Chr. Hansen, Дания	пермеат сладкой сыворотки	20,5	42,5	6,2	4,0	13,0	23,0	98	[62]
		пермеат кислой сыворотки	18,0	42,5	4,5	4,0	13,2	18,0	94	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	GODO-YNL2, Danisco, Дания	пермеат сладкой сыворотки	20,5	42,5	6,2	4,0	12,5	32,0	86	
		пермеат кислой сыворотки	18,0	42,5	4,5	4,0	13,0	28,0	80	
<i>Bacillus licheniformis</i>	NOLA Fit 5500, Chr. Hansen, Дания	пермеат сладкой сыворотки	20,5	42,5	6,2	4,0	13,8	13,0	78	
		пермеат кислой сыворотки	18,0	42,5	4,5	4,0	14,0	9,0	80	

Примечание: C_л – концентрация лактозы (здесь и далее – %, вес/объем), T – температура, A_ф – активность фермента, B_{ГОС} – максимальный выход ГОС, % от исходной лактозы, K_л – конверсия лактозы (гидролиз + трансгалактозилирование), * – иммобилизация на кальциевых альгинатных бусинах, МФ – микрофльтрация, УФ – ультрафильтрация.

Note: C_л – lactose concentration (% weight/volume), T – temperature, A_ф – enzyme activity, B_{ГОС} – maximal yield of galacto-oligosaccharides, % to initial lactose, K_л – lactose conversion (hydrolysis + transgalactosylation), * – immobilization on calcium-alginate beads, МФ – microfiltration, УФ – ultrafiltration.

(около 25 и 55 % соответственно) в разных видах сыворотки [42]. Более высокая конверсия лактозы с бета-галактозидазой *K. lactis* была получена и в других работах при сравнении результатов реакции с ферментами *A. oryzae*, несмотря на то что выходы ГОС варьировали от 20 до 30 % в зависимости от условий реакции [74, 75].

Применение сыворотки от производства сыра порунго и бета-галактозидазы из *K. lactis*, иммобилизованной на альгинатных шариках, уже через 1,5 ч реакции позволило достичь выхода ГОС 63 %, что в 1,5 раза превышало этот показатель в растворе лактозы, полученного в тех же условиях (pH 7,0; 37 °C). Выше была и производительность периодического процесса по ГОС (13,6 г/ч·л – в сыворотке против 8,2 г/ч·л – в растворе лактозы). После добавления в сыворотку разного количества лактозы и проведения ферментации при различных температурах (37, 46 и 55 °C) максимальные выходы ГОС (около 17 %) были получены при 20 и 40 % концентрации лактозы и 46 °C [64].

Широкий диапазон выходов ГОС, а также отсутствие выраженной зависимости между концентрацией лактозы и выходом ГОС при использовании сыво-

ротки вызывают интерес исследователей. Эти свойства могут быть обусловлены влиянием минеральных веществ, однако данные об этом противоречивы. Fischer and Kleinschmidt [42] установили, что активность бета-галактозидазы из *K. lactis* сильно повышалась в присутствии ионов натрия, калия и аммония, умеренно – в присутствии ионов магния, и не зависела от ионов кальция. В то же время на лактазу из *A. oryzae* все эти ионы не влияли [42]. Другой фермент из *K. lactis* проявлял более высокую гидролитическую активность в присутствии ионов калия, натрия и кальция, но ионы магния, марганца и цинка ингибировали его действие даже при низких концентрациях [74]. Влияние ионов натрия и калия на образование ГОС было изучено с использованием двух моделей (управляемой данными и гибридной), разработанных с помощью искусственной нейронной сети на основе данных экспериментов с лактазой из *K. lactis*, внесенной в растворы лактозы разной концентрации при pH 6,0 и 40 °C. Оптимизация гибридной модели, более точно описывающей кинетику процесса, позволила определить условия получения максимального выхода ГОС после добав-

ления 6 г/л хлорида натрия на уровне около 40 %, что незначительно отличалось от результатов эксперимента по выходу ГОС (43 %), но существенно – по условиям реакции [77].

Возможность получения ГОС в кислой сыворотке с ферментами *K. lactis* показана в ряде работ [42, 74, 75]. Хотя синтез ГОС протекал в этом виде сырья медленнее, чем в 3,8 % растворах лактозы, через 2 ч реакции был получен такой же выход ГОС (около 11 %), причем он был в 2,5 раза выше, чем в сладкой сыворотке. В кислой сыворотке с 20 % концентрацией лактозы выход ГОС достигал 33 % и был аналогичен этому показателю в сладкой сыворотке, что на 4 % превышало выход ГОС в растворах лактозы в таких же условиях. В растворах лактозы наблюдали резкое падение концентрации ГОС после достижения максимальных значений, а в сыворотке этот показатель длительное время оставался стабильным, возможно, благодаря буферным свойствам солей. Состав ГОС был похожим при использовании растворов лактозы и разных видов сыворотки, он включал в основном ди- и трисахариды в соотношении 1:1, при повышении концентрации лактозы до 20 % обнаружены также тетрасахариды [42].

Сыворотка, полученная при концентрировании греческого йогурта, рассматривается как перспективное сырье для производства ГОС. В исследованиях [74, 75] показано, что лактаза из *K. lactis* была эффективнее при трансгалактозилровании в натуральной йогуртной сыворотке, чем два других фермента из *A. oryzae* и *Thermothielavioides terrestris* (максимальный выход ГОС был на уровне 24, 10 и 13 % соответственно). В составе ГОС с применением фермента из *K. lactis* доминировал трисахарид 6-о-β-галактозиллактоза (31,5 %), затем следовали дисахариды 6-галактобиоза (13,6 %) и аллолактоза (7,1 %).

Бета-галактозидаза из *K. lactis* катализировала конверсию лактозы в подсырной сыворотке на уровне 75 % с максимальным выходом ГОС около 30 % через 60 мин реакции, в то время как фермент из *A. oryzae* и сочетание двух ферментов в соотношении 1:1 показали более низкие скорости гидролиза и трансгалактозилрования. Их максимальные выходы ГОС были получены позже, через 5 ч, и составили около 35 %, что ниже, чем в опытах с растворами лактозы или пермеатами [41]. Эти же виды сырья и ферменты были использованы для совершенствования процесса путем добавления глюкозооксидазы и ультразвука для ее активации при окислении глюкозы до глюконовой кислоты. При ферментации подсырной сыворотки самый высокий выход ГОС (около 35 %) был получен через 1 ч реакции, после чего этот показатель медленно снижался, в отличие от пермеата, где снижение было резким. Авторы объясняют это влиянием ионов калия, концентрация которых в 3,7 раза выше в пермеате, чем в сыворотке, что обеспечивает более высокую гидролизную активность лактазы [78].

Влияние ультразвука на ферменты разного происхождения исследовали при синтезе ГОС в концентрированной сыворотке, полученной при микрофильтрации обезжиренного молока. Ультразвуковое воздействие с интенсивностью 11 Вт/см² привело к увеличению активности лактазы из *A. oryzae*, но ускоряло инактивацию фермента из *K. lactis*, что может быть объяснено разной структурой ферментов (мономер – у *A. oryzae* и димер – у *K. lactis*). Увеличение концентрации фермента из *K. lactis* привело к сокращению времени достижения максимального выхода ГОС (около 11 %), за которым последовал их быстрый гидролиз. В опытах с *A. oryzae* ультразвук позволил повысить удельную производительность фермента до значений, полученных с чистой лактозой [79].

Применение сывороточных пермеатов дает возможность замены дорогостоящей лактозы в экономически эффективном производстве ГОС. В исследовании [41] в 40 % пермеате подсырной сыворотки с лактазами *K. lactis* был получен более высокий выход ГОС (45 %), чем в растворах лактозы (41 %) или в сыворотке (30 %) в тех же условиях. При этом конверсия лактозы достигала тоже более высоких значений (92, 70 и 75 % соответственно) [57]. Это может быть связано с присутствием в пермеатах минеральных компонентов, которые активируют бета-галактозидазы. Несмотря на то что в других работах выход ГОС в пермеатах был ниже (18–32 %), фермент из *K. lactis* также был более активным, чем лактазы других продуцентов [46, 63]. Два разных фермента из *K. lactis* показали значительную разницу в синтезе ГОС (максимальный выход ГОС 23 и 32 % при конверсии лактозы 98 и 86 % соответственно), но оба лучше работали в пермеате сладкой сыворотки, чем в кислой, что может быть связано с кислотностью и минеральным составом. В составе ГОС обнаружены в основном олигосахариды со степенью полимеризации 2 и 3 (64 и 54 % от общего содержания ГОС в пермеате сладкой сыворотки; 47 и 43 % в том же виде сырья соответственно). В пермеате кислой сыворотки синтезировали примерно такое же количество дисахаридов (63 и 64 %), но меньше трисахаридов (34 % для обоих ферментов) [63].

Сложный состав сырья и двойственность реакций гидролиз-трансгалактозилрование приводят к проблемам моделирования процессов и прогнозирования их результатов. Для решения этих задач и организации мониторинга производства ГОС в режиме реального времени были разработаны математические модели с использованием метода частичных наименьших квадратов и с многомерным разрешением кривой – чередующимися наименьшими квадратами, построенные на основании данных ИК-Фурье спектроскопии в сочетании с различными хемометрическими подходами. Они позволяют достаточно точно описывать изменение концентрации лактозы, глюкозы, галактозы, а также олигосахаридов с разной степенью полимеризации в разных видах сырья [41].

Еще одна проблема, связанная с особенностями молочного сырья – ограничения традиционных спектрофотометрических методов измерения активности ферментов, которые обычно применяют в прозрачных средах. Для определения активности двух бета-галактозидаз (из *K. lactis* и *A. oryzae*) и кинетики синтеза ГОС в непрозрачных растворах (молоке, сладкой и кислой сыворотках и пермеатах) предложено использовать изотермическую титрационную калориметрию, основанную на измерении скорости нагрева среды ферментации. Компоненты молочного сырья и происхождение ферментов влияют на термодинамику реакции [80].

Результаты трансгалактозилирования в молочном сырье существенно зависят от свойств фермента. Лактазы *K. lactis* в большинстве опубликованных исследований приводят к более высоким значениям конверсии лактозы при максимальном выходе ГОС, чем с другими продуцентами. Это соответствует тенденциям процессов, протекающих в растворах лактозы, однако зависимость выходов ГОС от концентрации лактозы в молочном сырье менее выражена. Это может быть связано с влиянием белковых и минеральных компонентов, которое изучено недостаточно.

Применение дрожжей *Kluveromyces* для повышения чистоты галактоолигосахаридов. Повышение доли ГОС в смеси, получаемой после трансгалактозилирования – сложная и дорогостоящая операция. Биологическая очистка ГОС от лактозы и / или моносахаридов путем их сбраживания различными микроорганизмами считается экономически выгодной альтернативой нанофильтрации, хроматографическим и другим методам [12]. Дрожжи рода *Kluveromyces* оказались эффективным инструментом повышения чистоты ГОС как при отдельном использовании, так и в случае комбинирования с другими микроорганизмами. При этом довольно широко применяют иммобилизацию как метод повышения стабильности фермента и проведения непрерывного процесса [9].

Иммобилизованные клетки *K. lactis* использовали для очистки углеводных смесей, содержащих олигосахариды грудного молока и ГОС. При исходном культивировании клеток отмечено, что *K. lactis* так же хорошо росли на средах с лактозой, как и с глюкозой, даже без дополнительного введения аминокислот. Не обнаружено существенных различий в скорости сбраживания лактозы и образования этилового спирта в селективной, богатой питательными веществами среде, минимальной солевой среде и растворе лактозы в дистиллированной воде, хотя размножение клеток в растворе не наблюдали. Иммобилизация *K. lactis* на гранулах альгината натрия позволила повысить эффективность удаления лактозы из 4 % растворов лактозы в 3,4 раза по сравнению с суспензионной культурой через 12 ч обработки. При повторном использовании иммобилизованных клеток скорость гидролиза лактозы существенно снижалась. Для ускорения

процесса в 2,5 раза была проведена дополнительная активация культуры в селективной среде без аминокислот с 2 % лактозы в течение 4 ч [81].

В качестве носителя для иммобилизации бета-галактозидазы из *Aspergillus* sp. и клеток *K. marxianus* NRRL Y-2415 использовали капсулы поливинилалкоголя в форме линз. Полученная в результате трансгалактозилирования иммобилизованным ферментом смесь ГОС имела низкую чистоту (22,7 %) даже в оптимальных условиях (в 30 % растворе лактозы при 30 °C и pH 4,5 в течение 30 ч). Смесь содержала преимущественно трисахариды, а также тетра- и гексасахариды. Через 20 ч после внесения в смесь клеток *K. marxianus* была утилизирована вся глюкоза, а через 40 ч – все перевариваемые сахара и чистота ГОС достигла 99,7 %, деградация олигосахаридов в процессе очистки не обнаружена. Такая же степень очистки была получена с иммобилизованными клетками через 30 ч, их активность сохранялась после 20 повторных операций, матрица оставалась стабильной [82].

Большой интерес представляют работы, в которых один и тот же штамм дрожжей применен и для трансгалактозилирования, и для очистки ГОС. Предварительную пермеабиллизацию клеток *K. lactis* CICC 1773 проводили в 30 % этаноле, после чего они были добавлены в 30 % растворы лактозы при 35 °C и pH 8,0. Трансгалактозилирование проходило быстрее в растворах с более высокой концентрацией полупроницаемых клеток (1,4–3,7 г/л), но после 1 ч реакции концентрация ГОС резко снижалась. Она росла медленнее, но была более стабильной в растворе с 0,9 г/л клеток, где через 6 ч реакции был получен максимальный выход ГОС (23 %). При уточнении параметров проведения процесса выход был повышен до 35 % через 1,5 ч в 40 % растворах лактозы при 40 °C и внесении 19 г/л пермеабиллизированных клеток. Для увеличения доли ГОС были использованы необработанные клетки того же штамма, барьер клеточной мембраны, способствующий селективному потреблению углеводов по отношению к ГОС. Добавление 15 г/л клеток в разбавленные до 10 % смеси позволило повысить чистоту ГОС до 85 % через 9 ч, через 15 ч – полностью удалить нежелательные углеводы (моносахариды и лактозу). После 9 циклов применения клеток эффективность очистки снизилась примерно на 10 %, что можно компенсировать путем добавления свежих клеток перед каждым новым циклом. Предложенная авторами стратегия имеет такие преимущества, как высокая стабильность и возможность повторного использования клеток дрожжей в пермеабиллизированной и необработанной форме, а также этанола, образующегося при сбраживании лактозы во время очистки для пермеабиллизации клеток [59].

Клетки штамма *K. lactis* CCT 7735 использовали для снижения содержания лактозы в неочищенном ГОС как при ферментации, так и в результате после-

дующей биоконверсии. Пермеабелизованные в 50 % этаноле в течение 15 мин клетки показали высокую эффективность очистки ГОС, сопоставимую с ферментным препаратом *K. lactis* Lactase NL, иммобилизованным на глиоксаль-агарозных гранулах. Обе формы биокатализаторов позволили снизить содержание лактозы на 70 % с повышением чистоты ГОС на 20 % за счет синтеза 6-галактобиозы и аллолактозы при 35 °C и pH 6,5 в 50 % углеводных сиропах. Дополнительная селективная биоконверсия оставшейся лактозы и образовавшихся глюкозы и галактозы с использованием живых клеток этого же штамма потребовала разведения сиропов до 20 %, но привела к получению ГОС с очень высокой чистотой (96 %). Авторы отмечают, что требуются дополнительные исследования по возможности многократного использования живых и пермеабелизованных клеток дрожжей [83].

Еще одно направление в биоочистке ГОС связано с комбинированным применением *Kluyveromyces* и дрожжей других родов. Сочетание *K. marxianus* NRLLY-1109 и *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4126 использовали для очистки сложной смеси олигосахаридов, полученной под воздействием бета-галактозидазы *A. oryzae* и содержащих ГОС, фруктоолисахариды (ФОС) и лактулозу. Это позволило полностью утилизировать моносахариды и получить продукт с чистотой 48 %. Показана возможность восстановления дрожжей и их повторного использования [84]. Другой вид *Kluyveromyces*, *K. lactis*, применили для обогащения смеси, содержащей 38 % ГОС, после ее обработки *S. cerevisiae*. Такая двойная очистка привела к повышению относительного содержания ГОС на 27 %. Клетки были использованы многократно, в 10 циклах без существенного снижения производительности. Очищенный продукт показал хороший пребиотический потенциал, особенно в плане увеличения антагонистической активности *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus plantarum* в отношении *Escherichia coli* и *Citrobacter* по сравнению с коммерческими продуктами ГОС, ФОС и инулином [85].

Разные виды и штаммы дрожжей были оценены с точки зрения эффективности очистки продукта Vivinal GOS (Friesland Campina, Нидерланды) [86]. Сначала из 75 штаммов отобрали 34, способных усваивать лактозу. 12 штаммов, показавших хороший рост в минимальных средах с лактозой, протестировали на осмотическую чувствительность к глюкозе, лактозе и ГОС. По совокупности свойств для экспериментов по одноэтапной ферментации сиропа ГОС с целью удаления глюкозы и лактозы выбрали штаммы *K. lactis* DMB Kl-RK, *K. marxianus* DMB Km-RK и *Kluyveromyces nonfermentans* NCAIM Y.01443. Штаммы *K. lactis* и *K. marxianus* показали самую высокую скорость утилизации глюкозы из разведенных до 10 % концентрации растворов ГОС. Снижение содержания лактозы и галактозы было более заметно, если в растворы добавляли дрожжевой экстракт. При этом ГОС

не расщеплялись, и их чистота повышалась до 91,5 % с *K. lactis* и до 100 % с *K. marxianus* через 24 ч при 30 °C, но выделялось значительное количество этанола (до 4 %), что требовало дополнительной очистки. *K. nonfermentans* медленнее перерабатывал глюкозу и лактозу, в результате чего чистота ГОС даже после внесения дрожжевого экстракта не превышала 52 %, однако смесь при этом не содержала моносахаридов и спирта. Для двухэтапной ферментации сначала использовали дрожжи *Cyberlindnera jadinii* (анаморф *Candida utilis*) NCAIM Y.00499, которые наиболее активно метаболизировали глюкозу в растворах ГОС, после чего добавляли лактозосбраживающие дрожжи рода *Kluyveromyces*. Самую высокую эффективность (до чистоты ГОС 92 %) показало сочетание *C. jadinii* и *K. lactis* при использовании 10 % растворов ГОС и внесении дрожжевого экстракта [86].

В рассмотренных публикациях много внимания уделяется механизмам очистки и точности воздействия на определенные углеводы. Клетки *K. lactis* CICC 1772 были использованы для очистки ГОС, синтезированных бета-галактозидазой из *L. plantarum*. Сначала процесс моделировали и определяли влияние концентрации инокулята дрожжей и сухих веществ в растворе на эффективность очистки. Самый высокий выход ГОС (около 90 %) получили через 20 ч ферментации. В качестве оптимальных выбрали условия с 75 г/л клеток дрожжей и 8 ч обработки 10 % модельных растворов, в результате чего степень чистоты ГОС повысилась с 30 до 75 %. При мониторинге активности ферментов, связанных с метаболизмом углеводов, обнаружили снижение этого показателя для бета-галактозидазы и гексокиназы на первом этапе реакции, после чего у первого фермента он стабилизировался, а у второго – увеличился. Медленный рост активности зафиксирован и у пируваткиназы. Удаление лактозы и моносахаридов сопровождалось также значительными изменениями на уровне мРНК. Авторы считают, что на первом этапе синтез ферментов был заблокирован, но в дальнейшем рост клеток возобновился за счет потребления лактозы, ускорения метаболизма глюкозы и транспорта веществ [87]. Полученные данные согласуются с известными положениями о том, что механизмы метаболизма углеводов дрожжей подразумевают сложные регуляторные схемы для индукции и репрессии генов, предположительно связанные с иерархическим потреблением различных источников углерода [12].

При использовании другого штамма, *K. lactis* CICC 1773, максимальная чистота ГОС была достигнута при той же концентрации клеток (75 г/л), но спустя 12 ч обработки 5 % растворов. После низкотемпературной дистилляции этанола, образовавшегося в результате сбраживания углеводов, чистота ГОС достигла 90 %. ГОС формирует комплексы с казеином в модели кислотной ферментации с помощью δ -лактона D-(+)-глюконовой кислоты, при этом реологические показа-

тели сгустка зависят от концентрации ГОС. Внесение 4–6 % ГОС приводило к повышению влагоудерживающей способности и стабильности системы благодаря формированию различных форм молекулярных взаимодействий между ГОС и казеином, а также изменению его вторичной структуры [88].

Коммерческий продукт, Biotis (Friesland Campina, Нидерланды), полученный с бета-галактозидазой *Papiliotrema terrestris* и содержащий 63 % ГОС, был подвергнут комплексной очистке. Сначала добавляли лактазу *K. lactis* (Maxilact LGi 5000, DSM, Нидерланды) для гидролиза оставшейся лактозы в глюкозу и галактозу, после чего они удалялись с помощью последовательной хроматографии с имитацией движущегося слоя. Максимальная чистота ГОС (около 96 %) после гидролиза была достигнута в разбавленном до 45 % (по сухим веществам) сиропе ГОС при дозе фермента 1,5 мг/г. Однако при этом терялась часть олигосахаридов со степенью полимеризации > 2 и нелактозных дисахаридов, стимулирующих рост бифидобактерий и принимающих участие в прямом защитном воздействии ГОС на эпителий кишечника. Поэтому авторы выбрали более низкие дозы фермента (0,5–1,0 мг/г), при которых чистота была на 2–5 % меньше, но все ценные фракции углеводов сохранялись. Продукт после очистки оказывал схожий с неочищенным препаратом эффект на состав микробиоты кишечника *in vitro* [89].

Так как селективная биоконверсия позволяет существенно повысить чистоту ГОС экономически выгодным и экологически безопасным путем, эта стратегия уже нашла применение в промышленных производственных процессах. Однако образование дрожжами некоторых продуктов метаболизма углеводов (например, этанола) может быть нежелательным и потребовать дополнительных стадий очистки [12].

Выводы

Дрожжи рода *Kluyveromyces* успешно используют в современном производстве ГОС в качестве продуцентов бета-галактозидаз, выполняющих в концентрированных растворах дисахарида лактозы двойную функцию – гидролаз и псевдотрансфераз. Выход ГОС с этими ферментами обычно достигает 30–40 %, что сопоставимо с другими продуцентами, но требует поиска методов его повышения. В результате реакции можно достичь высоких степеней (более 90 %) конверсии лактозы, это значительно выше, чем при использовании других ферментов, и позволяет получать низко- и безлактозные продукты, обогащенные ГОС.

Бета-галактозидазы *Kluyveromyces lactis* наиболее часто применяют для гидролиза лактозы и биосинтеза ГОС. Они имеют сложную тетрамерную структуру, отличаются нестабильностью, данные об оптимальных условиях их действия значительно варьируют в разных источниках. Результаты исследований не позволяют говорить о прямой зависимости между гидролитической и трансферазной активностью этих ферментов.

В составе ГОС, полученных с лактазами *K. lactis*, обнаружены в основном трисахариды и дисахариды, отличные от лактозы по структуре. Один из путей повышения выхода ГОС и разнообразия их структур связан с поиском новых продуцентов более эффективных ферментов. В этом плане представляют интерес бета-галактозидазы другого вида, *Kluyveromyces marxianus*, показывающие хорошую способность к трансгалактозилрованию и работе в разных видах молочного сырья, а также к комбинированию ферментов разных продуцентов (штамм, вид и род). Для повышения устойчивости могут быть использованы различные способы иммобилизации, в т. ч. с использованием собственных клеточных структур дрожжей.

Преимущества применения лактаз *Kluyveromyces* особенно ярко проявляются в молочном сырье, где они, как правило, действуют более эффективно, чем ферменты других продуцентов. Тенденция замены растворов лактозы на молоко, сыворотку и ее пермеаты является одной из наиболее выраженных в получении ГОС. Прямой биосинтез без дополнительной очистки привлекает возможностью получения недорогих функциональных продуктов. Это соответствует запросам потребителей, все больше предпочитающих натуральные продукты с полезными для здоровья свойствами.

Еще одна актуальная задача – оптимизация процессов биосинтеза и очистки ГОС. Кроме свойств и формы применения фермента, на них влияют и другие факторы – концентрация углеводов и неуглеводных компонентов в растворе, температура, pH и продолжительность реакций. Особенно сложными являются процессы, которые протекают в молочном сырье, что может быть обусловлено влиянием белковых и минеральных веществ. Вопросы, связанные с моделированием таких процессов, а также задачами определения наиболее оптимальных параметров в условиях многозадачности с использованием современных математических методов, требуют пристального внимания и изучения со стороны исследователей.

Наиболее привлекательной особенностью *Kluyveromyces* является возможность их комбинированного применения и в синтезе, и в очистке ГОС. Выращивание этих дрожжей в побочном молочном сырье, применение образовавшегося при этом этанола с целью пермеабиллизации клеток для их использования в виде цельноклеточных ферментов при синтезе ГОС, а целых клеток – для очистки получившихся смесей от лактозы и моносахаридов представляет собой хороший пример формирования замкнутого цикла использования сырья, выгодного с точки зрения экономических показателей и экологии.

Таким образом, к перспективным направлениям исследований можно отнести использование побочного молочного сырья для получения продуктов с ГОС, комбинированное применение ферментов разных продуцентов, а также комплексное применение бета-галактозидаз *Kluyveromyces* для биосинтеза и очистки ГОС.

Критерии авторства

С. А. Рябцева – концептуализация, курирование данных, методология, проверка, визуализация, написание оригинального черновика, обзор и редактирование; М. А. Шпак – курирование данных, формальный анализ, исследование, проверка, обзор и редактирование; С. Н. Сазанова – формальный анализ, исследование, обзор и редактирование.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

S.A. Ryabtseva was responsible for the research concept, data curation, methodology, validation, visualization, and original draft; M.A. Shpak provided the data curation, formal analysis, research, review, and proofreading; S.N. Sazanova performed the formal analysis, research, review, and proofreading.

Conflict of interest

The authors declared no potential conflict of interest regarding the research, authorship, and / or publication of this article.

Список литературы / References

1. Souza AFC, Gabardo S, de Jesus Silva Coelho R. Galactooligosaccharides: Physiological benefits, production strategies, and industrial application. *Journal of Biotechnology*. 2022;359:116–129. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2022.09.020>
2. Ambroggi V, Bottacini F, Cao L, Kuipers B, Schoterman M, et al. Galacto-oligosaccharides as infant prebiotics: Production, application, bioactive activities and future perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2023;63(6):753–766. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1953437>
3. Global galactooligosaccharides market overview. *Market Research Future*. [cited 2025 Mar 27]. Available from: <https://www.marketresearchfuture.com/reports/galactooligosaccharides-market-22433>
4. Martins GN, Ureta MM, Tymczyszyn EE, Castilho PC, Gomez-Zavaglia A. Technological aspects of the production of fructo and galacto-oligosaccharides. *Enzymatic synthesis and hydrolysis. Frontiers in Nutrition*. 2019;6:78. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00078>
5. Guerrero C, Vera C, Illanes A. Optimisation of synthesis of oligosaccharides derived from lactulose (fructosyl-galactooligosaccharides) with β -galactosidases of different origin. *Food Chemistry*. 2013;138(4):2225–2232. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.128>
6. Arnold JW, Whittington HD, Dagher SF, Roach J, Azcarate-Peril MA, et al. Safety and modulatory effects of humanized galacto-oligosaccharides on the gut microbiome. *Frontiers in Nutrition*. 2021;8:640100. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.640100>
7. Ignatova I, Arsov A, Petrova P, Petrov K. Prebiotic effects of α - and β -galactooligosaccharides: The structure-function relation. *Molecules*. 2025;30(4):803. <https://doi.org/10.3390/molecules30040803>
8. Deshmukh N, Rao PS, Sharma H, Sathish Kumar MH, Naik NL, et al. Waste to nutrition: The evolution of whey, a byproduct to galactooligosaccharides production. *Food Chemistry Advances*. 2024;4:100642. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100642>
9. Maráz A, Kovács Z, Benjamins E, Pázmándi M. Recent developments in microbial production of high-purity galactooligosaccharides. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2022;38(6):95. <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03279-4>
10. Žolnere K, Ciproviča I. The comparison of commercially available β -galactosidases for dairy industry: Review. *Food Science. Research for Rural Development*. 2017;1:215–222. <https://doi.org/10.22616/rrd.23.2017.032>
11. Chen X, de Vos P. Structure-function relationship and impact on the gut-immune barrier function of non-digestible carbohydrates and human milk oligosaccharides applicable for infant formula. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2024;64(23):8325–8345. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2199072>
12. Vera C, Guerrero C, Illanes A. Trends in lactose-derived bioactives: Synthesis and purification. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*. 2022;2:393–412. <https://doi.org/10.1007/s43393-021-00068-2>
13. Torres DPM, Gonçalves M do PF, Teixeira JA, Rodrigues LR. Galacto-oligosaccharides: Production, properties, applications, and significance as prebiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2010;9(5):438–454. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00119.x>
14. de Albuquerque TL, de Sousa M, Gomes E, Silva NC, Girão Neto CAC, et al. β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: Characterization, production, immobilization and applications – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;191:881–898. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.133>
15. Лютова Л. В., Наумов Г. И., Шнырева А. В., Наумова Е. С. Молекулярный полиморфизм β -галактозидазных генов *LAC4* у молочных и природных штаммов дрожжей *Kluyveromyces*. Молекулярная биология. 2021. Т. 55. № 1. С. 75–85. [Lyutova LV, Naumov GI, Naumova ES, Shnyreva AV. Molecular polymorphism of β -galactosidase *LAC4* genes in dairy and natural strains of *Kluyveromyces* yeasts. *Molecular Biology*. 2021;55(1):66–74. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31857/S0026898421010109>

16. Лютова Л. В., Наумова Е. С. Межштаммовая гибридизация дрожжей *Kluyveromyces lactis* для создания штаммов, активно сбраживающих лактозу. Биотехнология. 2021. Т. 37. № 4. С. 43–50. [Lyutova LV, Naumova ES. Inter-strain hybridization of *Kluyveromyces lactis* for creating efficient lactose-fermenting yeast. Biotekhnologiya. 2021;37(4):43–50. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/XZBKCB>
17. Лютова Л. В., Наумова Е. С. Сравнительный анализ сбраживания лактозы и ее компонентов, глюкозы и галактозы, межштаммовыми гибридами молочных дрожжей *Kluyveromyces lactis*. Биотехнология. 2023. Т. 39. № 1. С. 3–11. [Lyutova LV, Naumova ES. Comparative analysis of fermentation of lactose and its components, glucose and galactose, by interstrain hybrids of dairy yeast *Kluyveromyces lactis*. Biotekhnologiya. 2023;39(1):3–11. (In Russ.)] <https://doi.org/10.56304/s0234275823010064>
18. Rodriguez-Colinas B, Fernandez-Arrojo L, Ballesteros AO, Plou FJ. Galactooligosaccharides formation during enzymatic hydrolysis of lactose: Towards a prebiotic-enriched milk. Food Chemistry. 2014;145:388–394. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.060>
19. Liburdi K, Esti M. Galacto-oligosaccharide (GOS) synthesis during enzymatic lactose-free milk production: State of the art and emerging opportunities. Beverages. 2022;8(2):21. <https://doi.org/10.3390/beverages8020021>
20. Fischer C, Kleinschmidt T. Synthesis of galactooligosaccharides in milk and whey: A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2018;17(3):678–697. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12344>
21. Gänzle MG, Haase G, Jelen P. Lactose: Crystallization, hydrolysis and value-added derivatives. International Dairy Journal. 2008;18(7):685–694. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.003>
22. Guerrero C, Vera C, Conejeros R, Illanes A. Transgalactosylation and hydrolytic activities of commercial preparations of β -galactosidase for the synthesis of prebiotic carbohydrates. Enzyme and Microbial Technology. 2015;70:9–17. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2014.12.006>
23. Böger M, van Leeuwen SS, van Bueren AL, Dijkhuizen L. Structural identity of galactooligosaccharide molecules selectively utilized by single cultures of probiotic bacterial strains. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2019;67(50):13969–13977. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b05968>
24. van Leeuwen SS, Kuipers BJH, Dijkhuizen L, Kamerling JP. Comparative structural characterization of 7 commercial galacto-oligosaccharide (GOS) products. Carbohydrate Research. 2016;425:48–58. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2016.03.006>
25. Logtenberg MJ, Donners KMH, Vink JCM, van Leeuwen SS, de Waard P, *et al.* Touching the high complexity of prebiotic vivinal galacto-oligosaccharides using porous graphitic carbon ultra-high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2020;68(29):7800–7808. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02684>
26. Kruschitz A, Nidetzky B. Downstream processing technologies in the biocatalytic production of oligosaccharides. Biotechnology Advances. 2020;43:107568. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107568>
27. Cao T, Pázmándi M, Galambos I, Kovács Z. Continuous production of galacto-oligosaccharides by an enzyme membrane reactor utilizing free enzymes. Membranes. 2020;10(9):203. <https://doi.org/10.3390/membranes10090203>
28. Botelho VA, Mateus M, Petrus JCC, de Pinho MN. Membrane bioreactor for simultaneous synthesis and fractionation of oligosaccharides. Membranes. 2022;12(2):171. <https://doi.org/10.3390/membranes12020171>
29. Córdova A, Astudillo C, Giorno L, Guerrero C, Conidi C, *et al.* Nanofiltration potential for the purification of highly concentrated enzymatically produced oligosaccharides. Food and Bioprocess Processing 2016;98:50–61. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.11.005>
30. Information on EC 3.2.1.23 – beta-galactosidase. BRENDA. [cited 2025 Apr 21]. (In Russ.) Available from: <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.2.1.23>
31. Храмов А. Г., Рябцева С. А., Панфилова А. А., Родная А. Б., Лодыгин А. Д. Применение дрожжей-продуцентов бета-галактозидаз для получения галактоолигосахаридов из лактозосодержащего сырья. Хранение и переработка сельхозсырья. 2012. № 8. С. 36–39. [Khramtsov AG, Ryabtseva SA, Panfilova AA, Rodnaya AB, Lodygin AD. Yeast-producers of beta-galactosidases application for galactooligosaccharides production from lactose containing raw material. Storage and Processing of Farm Products. 2012;(8):36–39. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/PDHUFT>
32. Qiu Y, Lei P, Wang R, Sun L, Luo Z, *et al.* *Kluyveromyces* as promising yeast cell factories for industrial bio-production: From bio-functional design to applications. Biotechnology Advances. 2023;64:108125. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108125>
33. Allende A, Alvarez-Ordóñez A, Bolton D, Bover-Cid S, Chemaly M, *et al.* Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 15: Suitability of taxonomic units notified to EFSA until September 2021. EFSA Journal. 2022;20(1):e07045.
34. Spohner SC, Schaum V, Quitmann H, Czermak P. *Kluyveromyces lactis*: An emerging tool in biotechnology. Journal of Biotechnology. 2016;222:104–116. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.02.023>
35. Reina-Posso D, Gonzales-Zubiate FA. Expanding horizons: The untapped potential of *Kluyveromyces marxianus* in biotechnological applications. Fermentation. 2025;11(2):98. <https://doi.org/10.3390/fermentation11020098>

36. Pereira-Rodríguez A, Fernández-Leiro R, González-Siso MI, Cerdán ME, Becerra M, et al. Structural basis of specificity in tetrameric *Kluyveromyces lactis* β -galactosidase. *Journal of Structural Biology*. 2012;177(2):392–401. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2011.11.031>
37. P00723 (BGAL_KLULA). SWISS-MODEL. [cited 2025 Apr 21]. (In Russ.) Available from: <https://swissmodel.expasy.org/repository/uniprot/P00723?template=3ob8>
38. O'Connell S, Walsh G. Purification and properties of a β -galactosidase with potential application as a digestive supplement. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2007;141:1–14. <https://doi.org/10.1007/s12010-007-9206-4>
39. Yin H, Bultema JB, Dijkhuizen L, van Leeuwen SS. Reaction kinetics and galactooligosaccharide product profiles of the β -galactosidases from *Bacillus circulans*, *Kluyveromyces lactis* and *Aspergillus oryzae*. *Food Chemistry*. 2017;225:230–238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.030>
40. González-Delgado I, López-Muñoz M-J, Morales G, Segura Y. Optimisation of the synthesis of high galacto-oligosaccharides (GOS) from lactose with β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. *International Dairy Journal*. 2016;61:211–219. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.06.007>
41. Rico-Rodríguez F, Noriega MA, Lancheros R, Serrato-Bermúdez JC. Kinetics of galactooligosaccharide (GOS) production with two β -galactosidases combined: Mathematical model and raw material effects. *International Dairy Journal*. 2021;118:105015. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105015>
42. Fischer C, Kleinschmidt T. Synthesis of galactooligosaccharides using sweet and acid whey as a substrate. *International Dairy Journal*. 2015;48:15–22. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.01.003>
43. Frenzel M, Zerge K, Clawin-Rädecker I, Lorenzen PC. Comparison of the galacto-oligosaccharide forming activity of different β -galactosidases. *LWT – Food Science and Technology*. 2015;60(2, Part 1):1068–1071. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.064>
44. Botvynko A, Bednářová A, Henke S, Shakhno N, Čurda L. Production of galactooligosaccharides using various combinations of the commercial β -galactosidases. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2019;517(4):762–766. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.08.001>
45. Singh P, Arora S, Rao PS, Kathuria D, Sharma V, et al. Effect of process parameters on the β -galactosidase hydrolysis of lactose and galactooligosaccharide formation in concentrated skim milk. *Food Chemistry*. 2022;393:133355. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133355>
46. Mano MCR, Paulino BN, Pastore GM. Whey permeate as the raw material in galacto-oligosaccharide synthesis using commercial enzymes. *Food Research International*. 2019;124:78–85. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.019>
47. Padilla B, Ruiz-Matute AI, Belloch C, Cardelle-Cobas A, Corzo N, et al. Evaluation of oligosaccharide synthesis from lactose and lactulose using β -galactosidases from *Kluyveromyces* isolated from artisanal cheeses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012;60(20):5134–5141. <https://doi.org/10.1021/jf300852s>
48. Petrova VY, Kujumdzieva AV. Thermotolerant yeast strains producers of galacto-oligosaccharides. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2010;24(1):1612–1619. <https://doi.org/10.2478/V10133-010-0014-6>
49. Srivastava A, Mishra S, Chand S. Synthesis of galacto-oligosaccharides from lactose using immobilized cells of *Kluyveromyces marxianus* NCIM 3551. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 2016;123:147–153. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2015.11.017>
50. Srivastava A, Rastogi A, Jaswal AS, Sahu JK, Agarwal GP, et al. Nanofiltration-based purification process for whole-cell transformed prebiotic galactooligosaccharides. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2025;48:621–631. <https://doi.org/10.1007/s00449-025-03132-6>
51. Srivastava A, Mishra S, Chand S. Transgalactosylation of lactose for synthesis of galacto-oligosaccharides using *Kluyveromyces marxianus* NCIM 3551. *New Biotechnology*. 2015;32(4):412–418. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2015.04.004>
52. Botvynko A, Synytsya A, Čurda L. Synthesis of galactooligosaccharides with four β -galactosidases: Structural comparison of the products by HPLC, ESI-MS and NMR. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2025;744:151204. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.151204>
53. Rodríguez-Colinas B, de Abreu MA, Fernández-Arrojo L, de Beer R, Poveda A, et al. Production of galacto-oligosaccharides by the β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: Comparative analysis of permeabilized cells versus soluble enzyme. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011;59(19):10477–10484. <https://doi.org/10.1021/jf2022012>
54. van Trijp MPH, Rios-Morales M, Logtenberg MJ, Keshtkar S, Afman LA, et al. Detailed analysis of prebiotic fructo- and galacto-oligosaccharides in the human small intestine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2024;72(38):21152–21165. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c03881>
55. Ferreira-Lazarte A, Gallego-Lobillo P, Moreno FJ, Villamiel M, Hernández-Hernández O. *In vitro* digestibility of galactooligosaccharides: Effect of the structural features on their intestinal degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019;67(16):4662–4670. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00417>
56. Akbari P, Fink-Gremmels J, Willems RHAM, Difilippo E, Schols HA, et al. Characterizing microbiota-independent effects of oligosaccharides on intestinal epithelial cells: Insight into the role of structure and size. *European Journal of Nutrition*. 2017;56(5):1919–1930. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1234-9>

57. Figueroa-Lozano S, Ren C, Yin H, Pham H, van Leeuwen S, *et al.* The impact of oligosaccharide content, glycosidic linkages and lactose content of galacto-oligosaccharides (GOS) on the expression of mucus-related genes in goblet cells. *Food & Function*. 2020;11(4):3506–3515. <https://doi.org/10.1039/d0fo00064g>
58. Teymennet-Ramírez KV, Martínez-Morales F, Trejo-Hernández MR. Yeast surface display system: Strategies for improvement and biotechnological applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022;9:794742. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.794742>
59. Sun H, You S, Wang M, Qi W, Su R, *et al.* Recyclable strategy for the production of high-purity galacto-oligosaccharides by *Kluyveromyces lactis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2016;64(28):5679–5685. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b01531>
60. González-Cataño F, Tovar-Castro L, Castaño-Tostado E, Regalado-Gonzalez C, García-Almendarez B, *et al.* Improvement of covalent immobilization procedure of β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis* for galactooligosaccharides production: Modeling and kinetic study. *Biotechnology Progress*. 2017;33(6):1568–1578. <https://doi.org/10.1002/btpr.2509>
61. Misson M, Dai S, Jin B, Chen BH, Zhang H. Manipulation of nanofiber-based β -galactosidase nanoenvironment for enhancement of galacto-oligosaccharide production. *Journal of Biotechnology*. 2016;222:56–64. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.02.014>
62. Misson M, Jin B, Dai S, Zhang H. Interfacial biocatalytic performance of nanofiber-supported β -galactosidase for production of galacto-oligosaccharides. *Catalysts*. 2020;10(1):81. <https://doi.org/10.3390/catal10010081>
63. Majore K, Ciprovica I. Bioconversion of lactose into glucose–galactose syrup by two-stage enzymatic hydrolysis. *Foods*. 2022;11(3):400. <https://doi.org/10.3390/foods11030400>
64. Bolognesi LS, Gabardo S, Dall Cortivo PR, Ayub MAZ. Biotechnological production of galactooligosaccharides (GOS) using *porungo* cheese whey. *Food Science and Technology*. 2022;42:e64520. <https://doi.org/10.1590/fst.64520>
65. Chenafa A, Abdo AAA, Mahdi AA, Zhang Q, Chen C, *et al.* Functionalized electrospun nanofibers to enhance β -Galactosidase immobilization and catalytic activity for efficient galactooligosaccharide synthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;270:132312. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132312>
66. Xuan Z, Wang K, Duan F, Lu L. Non-carrier immobilization of yeast cells by genipin crosslinking for the synthesis of prebiotic galactooligosaccharides from plant-derived galactose. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;277(Part 1):133991. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133991>
67. Ren H, Fei J, Shi X, Zhao T, Cheng H, *et al.* Continuous ultrafiltration membrane reactor coupled with nanofiltration for the enzymatic synthesis and purification of galactosyl-oligosaccharides. *Separation and Purification Technology*. 2015;144:70–79. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.02.020>
68. Рябцева С. А., Котова А. А., Скрипнюк А. А. Синтез галактоолигосахаридов с использованием дрожжей *Kl. marxianus* и термофильного стрептококка. Молочная промышленность. 2017. № 6. С. 62–64. [Ryabtseva SA, Kotova AA, Skripnyuk AA. Synthesis of galactooligosaccharides using *Kl. marxianus* and streptococcus thermophilus. *Dairy industry*. 2017; (6):62–64. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/YULXGF>
69. Fischer C, Kleinschmidt T. Combination of two β -galactosidases during the synthesis of galactooligosaccharides may enhance yield and structural diversity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018;506(1):211–215. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.10.091>
70. Fischer C, Kleinschmidt T. Effect of glucose depletion during the synthesis of galactooligosaccharides using a trienzymatic system. *Enzyme and Microbial Technology*. 2019;121:45–50. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2018.10.009>
71. Rico-Rodríguez F, Serrato JC, Montilla A, Villamiel M. Impact of ultrasound on galactooligosaccharides and gluconic acid production throughout a multienzymatic system. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2018;44:177–183. <https://doi.org/10.1016/j.ultrsonch.2018.02.022>
72. Ponnusamy V, Sankaranarayanan M. Targeted gene manipulation of Leloir pathway genes for the constitutive expression of β -galactosidase and its transgalactosylation product galacto-oligosaccharides from *Kluyveromyces lactis* GG799 and knockout strains. *Enzyme and Microbial Technology*. 2023;169:110263. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2023.110263>
73. Kaczyński ŁK, Cais-Sokolińska D, Szwengiel A. Kinetics of lactose hydrolysis and galactooligosaccharides formation in beverages based on goat's milk and its permeate. *Food Science and Biotechnology*. 2019;28(5):1529–1534. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00600-0>
74. Limnaios A, Tsevdou M, Tsika E, Korialou N, Zerva A, *et al.* Production of prebiotic galacto-oligosaccharides from acid whey catalyzed by a novel β -galactosidase from *Thermothielavioides terrestris* and commercial lactases: A comparative study. *Catalysts*. 2023;13(10):1360. <https://doi.org/10.3390/catal13101360>
75. Limnaios A, Tsevdou M, Zafeiri E, Topakas E, Taoukis P. Cheese and yogurt by-products as valuable ingredients for the production of prebiotic oligosaccharides. *Dairy*. 2024;5(1):78–92. <https://doi.org/10.3390/dairy5010007>
76. Guron GKP, Hotchkiss ATJr, Bodnar BH, Harron A, Renye JAJr, *et al.* Oligosaccharide production using β -galactosidase from *Lactobacillus bulgaricus* and *Kluyveromyces lactis* in sweetened reconstituted nonfat dry milk. *Journal of Dairy Science*. 2025;108(6):5696–5704. <https://doi.org/10.3168/jds.2025-26396>

77. Hoyos JD, Noriega MA, Riascos CAM. Modeling and simulation of the enzymatic kinetics for the production of Galactooligosaccharides (GOS) using an Artificial Neural Network hybrid model. Digital Chemical Engineering. 2023;9:100132. <https://doi.org/10.1016/j.dche.2023.100132>
78. Rico-Rodríguez F, Villamiel M, Ruiz-Aceituno L, Serrato JC, Montilla A. Effect of the lactose source on the ultrasound-assisted enzymatic production of galactooligosaccharides and gluconic acid. Ultrasonics Sonochemistry. 2020;67:104945. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104945>
79. Córdova A, Astudillo-Castro C, Henriquez P, Manriquez N, Nuñez H, et al. Ultrasound-assisted enzymatic synthesis of galacto-oligosaccharides using native whey with two commercial β -galactosidases: *Aspergillus oryzae* and *Kluyveromyces var lactis*. Food Chemistry. 2023;426:136526. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136526>
80. Jarrard TR, Brock E, Hansen LD, Kenealey JD. Measuring β -galactosidase activity in opaque dairy solutions under optimum conditions for galactooligosaccharide synthesis by isothermal titration calorimetry. Journal of Dairy Science. 2023;106(12):8312–8320. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23400>
81. Yeo I-S, Yoon Y-J, Seo N, An HJ, Kim J-H. Biopurification of oligosaccharides by immobilized *Kluyveromyces lactis*. Applied Sciences. 2019;9(14):2845. <https://doi.org/10.3390/app9142845>
82. Tokošová S, Hronská H, Rosenberg M. Production of high-content galacto-oligosaccharides mixture using β -galactosidase and *Kluyveromyces marxianus* entrapped in polyvinylalcohol gel. Chemical Papers. 2016;70:1445–1451. <https://doi.org/10.1515/chempap-2016-0081>
83. Santibáñez L, Guerrero C, Illanes A. Raw galacto-oligosaccharide purification by consecutive lactose hydrolysis and selective bioconversion. International Dairy Journal. 2017;75:91–100. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.07.008>
84. Guerrero C, Vera C, Illanes A. Selective bioconversion with yeast for the purification of raw lactulose and trans-galactosylated oligosaccharides. International Dairy Journal. 2018;81:131–137. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.02.003>
85. Srivastava A, Mishra S. Enrichment and evaluation of galactooligosaccharides produced by whole cell treatment of sugar reaction mixture. Molecular Biology Reports. 2019;46:1181–1188. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04585-1>
86. Pázmándi M, Kovács Z, Balga E, Kovács M, Maráz A. Production of high-purity galacto-oligosaccharides by depleting glucose and lactose from galacto-oligosaccharide syrup with yeasts. Yeast. 2020;37(9–10):515–530. <https://doi.org/10.1002/yea.3507>
87. Zhang X, Yao C, Wang T, Zhao H, Zhang B. Production of high-purity galacto-oligosaccharides (GOS) by *Lactobacillus*-derived β -galactosidase. European Food Research and Technology. 2021;247:1501–1510. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03727-9>
88. Li Z, Tian-Tian L, Aziz T, Min Z, Sarwar A, et al. Purification of galacto-oligosaccharide (GOS) by fermentation with *Kluyveromyces lactis* and interaction between GOS and casein under simulated acidic fermentation conditions. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2023;39(12):342. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03791-1>
89. Cao L, Bultsma M, Wissing J, Gerhard BE, Ziegler M, et al. High purity galacto-oligosaccharides: Optimal process design and prebiotic effect. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. 2023;30:100387. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2023.100387>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2592>
<https://elibrary.ru/MKODYV>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Продукты углекислотной экстракции как биоактиваторы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*



А. В. Пермякова¹, А. А. Рябоконева^{1,*}, И. Ю. Сергеева¹,
С. С. Лашицкий¹, Я. Ли², Ю. Хуан³

¹ Кемеровский государственный университет , Кемерово, Россия

² Северо-восточный сельскохозяйственный университет , Харбин, Китай

³ Харбинский университет коммерции , Харбин, Китай

Поступила в редакцию: 29.05.2025

Принята после рецензирования: 04.07.2025

Принята к публикации: 08.07.2025

*А. А. Рябоконева: lara.ryavokoneva22@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-3282-9326>

А. В. Пермякова: <https://orcid.org/0000-0003-1996-8903>

И. Ю. Сергеева: <https://orcid.org/0000-0002-1686-0131>

С. С. Лашицкий: <https://orcid.org/0000-0001-9468-9088>

Я. Ли: <https://orcid.org/0000-0002-5796-4367>

Ю. Хуан: <https://orcid.org/0000-0001-8150-4902>

© А. В. Пермякова, А. А. Рябоконева, И. Ю. Сергеева,

С. С. Лашицкий, Я. Ли, Ю. Хуан, 2025



Аннотация.

Улучшение метаболических функций дрожжевой культуры различными приемами – одно из направлений совершенствования биотехнологических процессов. Поиск новых источников биостимуляторов нацелен на природные ресурсы, в качестве которых могут выступать *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L., и неdestructивные методы извлечения ценных компонентов сырья, такие как сверхкритическая флюидная экстракция. Цель работы – исследовать воздействие CO₂-экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* на ферментативную и физиологическую активность дрожжевой культуры.

Объекты исследования – CO₂-экстракты *T. officinale* и *T. pratense*, полученные сверхкритической флюидной экстракцией при рабочем давлении от 8,0 до 20,0 МПа и температуре 40 °С; производственные пивные дрожжи. Химический состав экстрактов определяли газовой хроматографией, бродительную активность дрожжей – методом Варбурга.

Определены рациональные параметры сверхкритической флюидной экстракции: для *T. officinale* рабочее давление – 15,0 МПа, для *T. pratense* – 8,0–15,0 МПа. В результате сверхкритической флюидной экстракции получены отдельные фракции CO₂-экстрактов, различающиеся внешним видом (от жидких до воскообразных), значением показателя преломления (чем больше рабочее давление, тем выше величина показателя), химическим составом (смесь углеводов, фенольных соединений, жирных кислот, кетонов, альдегидов, спиртов), потенциальной биологической активностью (антибактериальной, антиоксидантной и др.). Представлены результаты изменения химического состава CO₂-экстрактов при продолжительном хранении. Исследованы спектрограммы и химический состав образцов CO₂-экстрактов исходных и после продолжительного выдерживания. Отмечено уменьшение концентрации и преобразования полифенолов, флавоноидов и других компонентов эфирных масел. Проведен анализ микробиологического состояния CO₂-экстрактов: после хранения / использования в течение 30 суток при температуре 20–24 °С в пробах выявлено наличие грамотрицательных бактерий; при 2–4 °С без света, а также в свежеполученных экстрактах – отсутствие микрофлоры. Обработка дрожжей водными растворами CO₂-экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* в течение 20–30 мин в количестве 0,2–2,0 % к объему биомассы способствовала увеличению бродительной активности в среднем на 220 % и снижению количества мертвых клеток.

Результаты свидетельствуют о перспективности использования CO₂-экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* в качестве биостимулирующих препаратов дрожжевой культуры.

Ключевые слова. Флюидная CO₂-экстракция, химический состав, биоактиваторы, *Saccharomyces cerevisiae*, *Taraxacum officinale*, *Trifolium pratense*, бродительная активность, физиологические показатели

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00134, <https://rscf.ru/project/24-26-00134/>

Для цитирования: Пермякова Л. В., Рябоконева Л. А., Сергеева И. Ю., Лашицкий С. С., Ли Я. и др. Продукты углекислотной экстракции как биоактиваторы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 607–623. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2592>

Carbon Dioxide Extraction Products as Biostimulators for Yeast *Saccharomyces cerevisiae*



Larisa V. Permyakova¹, Larisa A. Ryabokoneva^{1,*},
Irina Yu. Sergeeva¹, Sergey S. Lashitskiy¹, Yang Li², Yuyang Huang³

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

² Northeast Agricultural University^{ROR}, Harbin, China

³ Harbin University of Commerce^{ROR}, Harbin, China

*Larisa A. Ryabokoneva: lara.ryabokoneva22@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-3282-9326>

Larisa V. Permyakova: <https://orcid.org/0000-0003-1996-8903>

Irina Yu. Sergeeva: <https://orcid.org/0000-0002-1686-0131>

Sergey S. Lashitskiy: <https://orcid.org/0000-0001-9468-9088>

Yang Li: <https://orcid.org/0000-0002-5796-4367>

Yuyang Huang: <https://orcid.org/0000-0001-8150-4902>

© L.V. Permyakova, L.A. Ryabokoneva, I.Yu. Sergeeva,
S.S. Lashitskiy, Y. Li, Y. Huang, 2025



Received: 29.05.2025

Revised: 04.07.2025

Accepted: 08.07.2025

Abstract.

Yeast cultures with advanced metabolic indicators improve various industrial biotechnological processes. New sources of biostimulators involve mainly natural resources, e.g., *Taraxacum officinale* Wigg. or *Trifolium pratense* L., as well as non-destructive extraction methods, e.g., supercritical fluid extraction (SCFE). This research featured the effect of CO₂ extracts of *T. officinale* and *T. pratense* on the enzymatic and physiological profiles of yeast culture.

The experiment involved CO₂ extracts of *T. officinale* and *T. pratense* obtained by SCFE at 8.0–20.0 MPa and 40°C, as well as industrial brewer's yeast. The method of gas chromatography made it possible to reveal the chemical composition of the extracts while the Warburg method revealed the fermentation activity of the yeast.

The rational parameters of SCFE for *T. officinale* included a working pressure of 15.0 MPa while for *T. pratense* it was 8.0–15.0 MPa. The separate fractions of CO₂ extracts obtained with SCFE differed in many aspects. The appearance varied from liquid to waxy. The refractive index correlated with the working pressure. The chemical composition was represented by different mixes of hydrocarbons, phenolic compounds, fatty acids, ketones, aldehydes, and alcohols. The bioactive potential demonstrated antibacterial, antioxidant, and other properties. The analysis involved the chemical composition of the CO₂ extracts during long-term storage based on spectrograms and chemical composition. It showed a decrease in the concentration and transformation of polyphenols, flavonoids, and other essential oil components. The microbiological profile of the CO₂ extracts was as follows: on storage day 30 at 20–24°C, they contained gram-negative bacteria. However, no microflora was detected when the storage conditions were 2–4°C in the dark. The initial extracts were also microflora-free. When treated with aqueous solutions of CO₂ extracts of *T. officinale* and *T. pratense* for 20–30 min in an amount of 0.2–2.0% biomass volume, the yeast increased their fermentation activity by an average of 220% while the dead cell count went down.

In this research, the CO₂ extracts of *T. officinale* and *T. pratense* demonstrated good prospects as industrial yeast biostimulators.

Keywords. Supercritical CO₂ extraction, chemical composition, biostimulators, *Taraxacum officinale*, *Trifolium pratense*, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation activity, physiological parameters

Funding. The research was supported by the Russian Science Foundation, Grant No. 24-26-00134, <https://rscf.ru/project/24-26-00134/>

For citation: Permyakova LV, Ryabokoneva LA, Sergeeva IYu, Lashitskiy SS, Li Y, et al. Carbon Dioxide Extraction Products as Biostimulators for Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3): 607–623. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2592>

Введение

Актуальной задачей, стоящей перед биотехнологическими производствами, основанными на жизнедеятельности дрожжей *Saccharomyces*, является интенсификация наиболее длительных стадий с сохранением

высокого качества конечного продукта. Один из векторов решения данной проблемы – поиск доступных, малозатратных способов регулирования физиолого-биохимических характеристик дрожжевой культуры. К ним относят приемы с использованием биостиму-

ляторов различной природы – как химической (синтетической), так и естественной (растительной, животной, микробной). Для гигиенической безопасности в приоритете натуральность источников происхождения БАВ. Важен фактор распространенности отечественного сырьевого ресурса с позиции импортозамещения стимулирующими добавками подобного типа [1].

Предложены приемы повышения биокаталитического потенциала дрожжей (пекарских, пивных, спиртовых), улучшение показателей физиологического состояния культуры с использованием экстрактов растительного лекарственного (хмель, аралия маньчжурская), кормового (лебеда сибирская), плодового-ягодного и овощного сырья, отходов ряда пищевых производств [2–7].

В качестве перспективных источников БАВ и активаторов дрожжевой культуры могут служить клевер луговой (*Trifolium pratense* L.) и одуванчик обыкновенный (*Taraxacum officinale* Wigg.). Эти растения имеют широкий географический ареал распространения, химический состав сырья отличается разнообразием, что обуславливает его ценные свойства и области применения.

T. officinale содержит углеводы (поли- и олигосахариды), белки (включая лектины), аминокислоты (в том числе незаменимые), витамины (А, В1, В2, В4, С, РР, β -каротин) и минеральные элементы (магний, железо, цинк, кальций, натрий, калий, фосфор). Присутствуют тараксерол, фарадиол, арнидиол и др. терпеновые углеводороды, каротиноиды, фитостеролы, фенольные гликозиды, эфирные масла (определяют фармакологическую активность этого растительного сырья) [8–11].

T. pratense характеризуется высоким содержанием таких сахаров, как глюкоза и галактоза, наличием арабинозы, рамнозы и ксилозы. В его составе обнаружены аминокислоты (аспарагиновая, глутаминовая, пролин, глицин, цистеин, лейцин, лизин, триптофан, метионин), витамины (А, С, Е, К), макро- и микроэлементы (калий, фосфор, магний, натрий, кальций, сера, железо, алюминий, кремний, марганец). В сырье присутствуют различные группы фенольных веществ: флавоноиды (рутин, цинарозид, кверцетин), изофлавоноиды (формонетин, биоханин, генистеин, олонин, дайзеин), антоцианы, фенолкарбоновые кислоты, кумарины и дубильные вещества [12–16].

Извлечение БАВ из растительного сырья осуществляется многочисленными методами, условно подразделяемыми на традиционные и современные. К первой группе относятся мацерация, перколяция, экстракция Сокслета и др. [17, 18]. Они характеризуются простотой применения, однако обладают низкой диффузионной эффективностью и длительным временем экстракции [17, 19]. Вторая группа включает методы с высоким уровнем извлечения фитонутриентов: экстракция ультразвуковая, микроволновая, экстракция под давлением (докритическая и сверхкритическая) [17, 20–22]. Последний способ на данный момент считается наиболее перспективным для выделения БАВ.

Экстракция под давлением предполагает выдерживание растительного сырья в сосудах под высоким давлением при температуре 35–40 °С. В зависимости от технологических параметров выделяют докритическую экстракцию (давление растворителя ниже его критической точки; для CO_2 – до 0,739 МПа) и сверхкритическую (давление выше критической точки; для CO_2 – более 0,739 МПа) [21–23]. Диапазон температур, подбираемых в зависимости от способа, сырья и природы извлекаемых веществ, обычно составляет 30–100 °С, давление – 3,5–20,0 МПа [23].

Сверхкритическая флюидная экстракция (СКФЭ) с использованием углекислоты обладает рядом преимуществ перед традиционными методами. СКФЭ является экологически чистым методом с легко удаляемым растворителем, что гарантирует получение высококачественного экстракта без остаточного содержания растворителей [17, 23]. Путем регулирования давления и температуры можно точно контролировать селективность процесса, извлекая конкретные соединения и минимизируя экстрагирование нежелательных компонентов. Низкая температура экстракции позволяет сохранить термолабильные БАВ. Это делает СКФЭ подходящей для извлечения ценных веществ, легко разрушающихся при высоких температурах, характерных для других методов. В данной работе для экстракции растительного сырья выбран метод СКФЭ.

Существуют сведения об использовании сока свежей наземной части *T. officinale* для корректировки среды дрожжегенерирования в спиртовом производстве [24], а также о применении CO_2 -шротов *T. officinale* и *T. pratense* для повышения биокаталитического потенциала пивных дрожжей [25]. Однако в литературе отсутствуют данные об использовании CO_2 -экстрактов в качестве биостимуляторов жизненной активности дрожжей, включая экстракты *T. officinale* и *T. pratense*. Многокомпонентный состав *T. officinale* и *T. pratense* позволяет предположить, что CO_2 -экстракты из этих видов растительного сырья могут рассматриваться как перспективные источники жизненно необходимых для нормального развития дрожжевой культуры соединений.

Цель исследования – оценка потенциальной возможности использования CO_2 -экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* в качестве активаторов биотехнологических функций дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования – CO_2 -экстракты *Taraxacum officinale* Wigg., *Trifolium pratense* L.; дрожжи пивные низового брожения.

Для получения CO_2 -экстрактов использовали растительное сырье *T. officinale* и *T. pratense*, произрастающее в Кемеровской области – Кузбассе. Свежее сырье (наземная часть) собрано в период вегетации (май-июнь 2023, 2024 г., д. Осиновка Кемеровской области, Россия). Наземные части растений высуши-

вали естественным путем без доступа прямого солнечного света, измельчали на ножевой мельнице РМ-120 (ВИБРОТЕХНИК, Россия).

Полупромышленную установку (ООО «CO₂EXT», Россия), представляющую собой экстрактор закрытого типа, с тремя рабочими колонками использовали для сверхкритической флюидной экстракции (СКФЭ). Две колонки вместимостью по 10 л и одна – 1 л. В состав установки также входят три сепаратора, позволяющие максимально увеличить расход CO₂ и фракционировать получаемый экстракт. Оборудование полностью автоматизировано. Схема установки представлена на рисунке 1.

Параметры обработки сырья: температура в рабочей колонке – 40 °С, давление экстракции – от 8,0 до 20,0 МПа. Давление в сепараторах 6,0; 5,0; 4,0 МПа; температура 30, 30, 25 °С соответственно; длительность экстрагирования – 60 мин при каждом значении давления. В ряде случаев для экстрагирования использовали соразтворитель – 96 %об. этиловый спирт, который добавляли к CO₂ в количестве 2 %.

Производственные пивные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* низового брожения штамм Rh были взяты после окончания процесса ферментации 11 % сусла (ООО ТД «Золотая сова», г. Кемерово, Россия).

Методы исследования. В CO₂-экстрактах определяли:

- коэффициент преломления рефрактометрическим методом согласно ГОСТ ISO 6320–2012;
- химический состав газохроматографическим методом с масс-спектрометрией газовым хромато-масс-спектрометром GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu, Япония). Параметры процесса: капиллярная колонка MDN1

(твердосвязанный метилсиликон, 30 м × 0,25 мм, Sigma-Aldrich, США), объем инжектора – 1 мкл, температура инжектора – 200 °С, деление потока – 1:10, температура интерфейса – 210 °С, температура детектора – 200 °С, скорость потока газа-носителя (He) – 0,8 см³/мин, температурная программа: 100 °С в течение 2 мин, 5 °С/мин до 120 °С, 20 °С/мин до 260 °С, затем 260 °С в течение 2 мин. Идентификация масс от 1,5 до 1,900 m/z;

– спектры оптического поглощения с помощью спектрофотометра СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия) при стандартных условиях в диапазоне длин волн 200–800 нм в кюветах шириной 10 мм. Раствором сравнения при измерении спектров служили этиловый спирт из пищевого сырья с объемной долей 96 % и гексан;

– наличие посторонней микрофлоры путем поверхностного посева на твердую питательную среду МПА [26]. Образец отбирали микробиологической петлей и штрихом сеяли в чашки Петри на среду МПА, после помещали в термостат (при 30 °С). По истечении трех дней отмечали наличие посторонней микрофлоры. Если в чашках присутствовали колонии микроорганизмов, окрашивали их по Граму и подвергали микроскопированию с целью идентификации.

В дрожжах до и после обработки экстрактами оценивали биокаталитический потенциал (бродильную активность) модифицированным методом Варбурга по объему CO₂, выделившегося за 60 мин [27]; физиологическое состояние по наличию в биомассе нежизнеспособных (окрашиванием пробы раствором метиленовым синим) и почкующихся клеток методом прямого микроскопирования (×600) с использованием бинокулярного микроскопа Levenhuk 850B (Китай) и камеры Горяева.

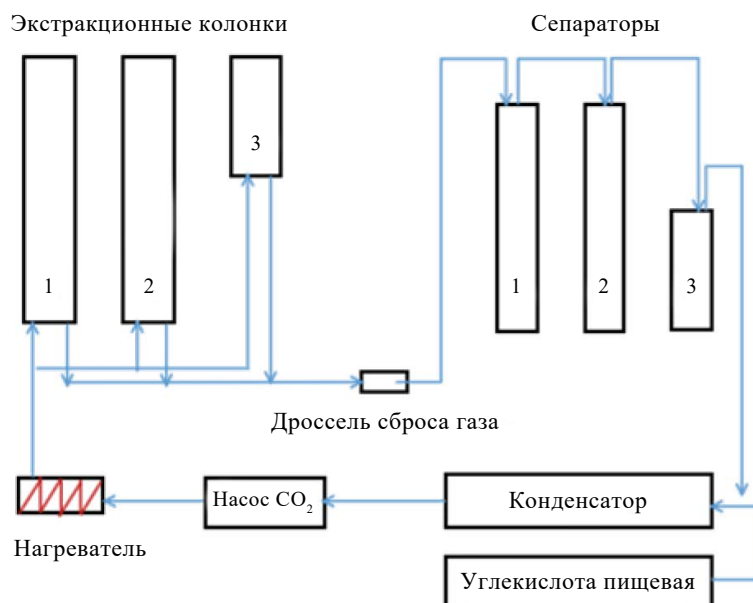


Рисунок 1. Схема установки углекислотной экстракции

Figure 1. Carbon dioxide extraction plant

Для выявления посторонней микрофлоры в дрожжах, обработанных CO_2 -экстрактами, готовили разведение $1:10^3$, $1:10^4$, делали посев в чашки Петри на среду Сабуро глубинным методом, термостатировали при температуре $30\text{ }^\circ\text{C}$ [26]. Затем сравнивали размер выросших колоний обработанных дрожжей по отношению к необработанным.

Первичная обработка результатов проводилась в программе MS Excel 365. Данные представлены в виде среднего арифметического $\pm$ стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Различия в средних значениях считали достоверными при уровне вероятности $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Оценка физико-химических показателей CO_2 -экстрактов. В результате экстракции сырья в зависимости от давления в рабочей колонке и в сепараторе были получены различные фракции CO_2 -экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L. (табл. 1), отличающиеся количественным выходом; внешним видом; физико-химическими свойствами и химическим составом. В процессе экстрагирования *T. officinale* при давлении в рабочей колонке $8,0\text{ МПа}$ выход продукта во всех трех сепараторах отсутствовал, в отличие от *T. pratense*. Максимальный выход экстракта *T. officinale* наблюдался в сепараторе 2 при давлении $20,0\text{ МПа}$ – $82,0\%$ от общей массы экстракта, в то время как для *T. pratense* при давлении $15,0\text{ МПа}$ из сепаратора 3 – $45,5\%$. При этом в последнем случае суммарный выход экстракта был почти в 2 раза больше, чем из *T. officinale*: $3,57\text{ г/100 г СВ}$ и $1,81\text{ г/100 г СВ}$ соответственно.

По внешнему виду фракции CO_2 -экстракта *T. officinale* ЭО1–ЭО4 и CO_2 -экстракта *T. pratense* ЭК1–ЭК5 представляли продукт жидкой консистенции, прозрачный, с различными оттенками зеленого и желтого цветов. При давлении выше $15,0\text{ МПа}$ повышался

выход тугоплавких, воскообразных, нерастворимых в воде веществ, что характерно для фракций ЭО5–ЭО6 и ЭК5–ЭК7. Цвет массы этих фракций зелено-желтый, оранжевый или темно-коричневый. Использование высокого давления в рабочей колонке ($20,0\text{ МПа}$) и сорастворителя (этилового спирта) позволило получить жидкий продукт (ЭО7 и ЭК8) светло-зеленого цвета с включениями воскоподобных частиц.

Значения коэффициента преломления (табл. 1) отдельных фракций коррелировали с давлением CO_2 экстракции. Наличие воскоподобных веществ – сложной смеси восков, свободных длинноцепочечных жирных кислот, гидрооксикислот, диолов, длинноцепочечных алифатических углеводородов и кетонов, способствует увеличению показателя преломления [28]. Среднее значение показателя для CO_2 -экстрактов *T. officinale* – $1,4785 \pm 0,0002$ [29], коэффициент преломления для эфирного масла из *T. pratense* находится в пределах $1,4630$ – $1,4720$ [30], что говорит о верификации полученных результатов.

Учитывая органолептические характеристики, параметры получения CO_2 -экстрактов, значения коэффициента преломления, для дальнейшего анализа химического состава методом газовой хроматографии выбрали отдельные фракции: для *T. pratense* – ЭК1, ЭК3, ЭК6, ЭК8, для *T. officinale* – ЭО1 и ЭО4. В таблицах 2 и 3 представлены данные по преобладающим в CO_2 -экстрактах веществам. Компонентный анализ извлеченных фракций CO_2 -экстрактов позволил выявить общие характеристики их состава. Фракции представляют сложную смесь веществ, которые относятся к жирным кислотам и их эфирам, кислородсодержащим эфирам, углеводородам различной структуры, фенольным веществам различных групп и строения.

В составе фракции ЭК1 CO_2 -экстракта *T. pratense* обнаружено более 91 вещества, не идентифицировано 5 компонентов. Распределение (% от массы всех

Таблица 1. Характеристика параметров получения и показатель преломления фракций CO_2 -экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L.

Table 1. Fractions of CO_2 extracts of *Taraxacum officinale* Wigg. and *Trifolium pratense* L.: production parameters and refractive index

CO_2 -экстракты							
<i>Taraxacum officinale</i> Wigg.				<i>Trifolium pratense</i> L.			
Кодировка образца	№ фракции	Давление в рабочей колонке / давление в сепараторе, МПа	Коэффициент преломления $\pm 0,0002$	Кодировка образца	№ фракции	Давление в рабочей колонке / давление в сепараторе, МПа	Коэффициент преломления $\pm 0,0002$
ЭО1	1	15,0/6,0	1,4715	ЭК1	1	8,0/6,0	1,4451
ЭО2	2	15,0/5,0	1,4825	ЭК2	2	8,0/5,0	1,4489
ЭО3	3	15,0/4,0	1,4715	ЭК3	3	8,0/4,0	1,4405
ЭО4	4	20,0/6,0	1,4725	ЭК4	4	15,0/5,0	1,4625
ЭО5	5	20,0/5,0	1,4848	ЭК5	5	15,0/4,0	1,4625
ЭО6	6	20,0/4,0	1,4918	ЭК6	6	20,0/6,0	1,4680
ЭО7	7	20,0/6,0; 5,0; 4,0*	1,4751	ЭК7	7	20,0/5,0	1,4705
				ЭК8	8	20,0/6,0; 5,0; 4,0*	1,4725

Примечание: * – экстракт получен CO_2 экстракцией с применением сорастворителя (96 % этиловый спирт).

Note: * – the extract was obtained by CO_2 extraction with 96% ethyl alcohol co-solvent.

Таблица 2. Преобладающие вещества в отдельных фракциях CO₂-экстрактов *Trifolium pratense* L.Table 2. Major substances in separate fractions: CO₂ extracts of *Trifolium pratense* L.

Вещество	Содержание, % от суммы обнаруженных веществ	Химический класс вещества
Фракция ЭК1		
Неофитадиен	17,42	Терпены
Генеикозан	11,72	Циклические углеводороды
Лупейл ацетат	12,00	Тритерпеноидные эфиры
Люпеол	6,87	Фитостерол
бета-Амирин	4,62	Терпены
Гептадекан	4,04	Углеводороды
Эйкозан	2,35	Углеводороды
Фракция ЭК3		
2(3Н)-Фуранон, дигидро-5-тетрадецил	32,42	Кислородсодержащие соединения
2Н-Пиран-2-он,6-гептилтетрагидро-(CAS)	7,56	Циклические углеводороды
Гептадеканал	4,45	Кислородсодержащие соединения
1-Трикозанол	3,74	Спирты
Фракция ЭК6		
3,7,11,15-тетраметил-2-гексадецен-1-ол	43,27	Спирты
Неофитадиен	35,48	Терпены
Гександиевая кислота, бис (2-этилгексил) эфир (КАС)	11,09	Эфиры карбоновых кислот
Фракция ЭК8		
1Н-пурин-6-амин, [(2-фторфенил) метил]-(CAS)	11,13	N-содержащие
Циклогексаноксим тертио-бутил-4	11,24	Углеводороды
2,4,4,6,6,8,8-гептаметил-1-нонен	5,38	Терпены

Таблица 3. Преобладающие вещества в отдельных фракциях CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg.Table 3. Major substances in separate fractions: CO₂ extracts of *Taraxacum officinale* Wigg.

Вещество	Содержание, % от суммы обнаруженных веществ	Химический класс вещества
Фракция ЭО1		
Гександиевая кислота, бис(2-этилгексил) эфир	44,04	Эфиры карбоновых кислот
Неофитадиен	5,18	Терпены
гамма-ситостерол	3,01	Фенолы
Фитол	1,29	Терпены
Фракция ЭО4		
79,12-октадекадиеновая кислота (Z, Z)-метилвый эфир	13,8	Эфиры карбоновых кислот
альфа-амирин	5,29	Терпены
3,7,11,15-тетраметил-2-гексадецен-1-ол	2,69	Терпены
Люпеол	3,57	Терпены

компонентов смеси) по группам веществ следующее: углеводородная составляющая – 9,80; циклические углеводороды – 15,36; кислородсодержащие соединения – 2,66; терпеноидные эфиры – 23,70; терпеновые соединения – 35,00 (табл. 2). Имеются представители и других групп, но в значительно меньшем количестве. По данным [31, 32], в экстрактах, извлеченных

разными способами, в том числе с помощью углекислотной экстракции, отмечено высокое содержание гликозидов, терпеновых веществ, изофлавоноидов. Жирнокислотный состав полученных CO₂-экстрактов *T. pratense* характеризуется наличием олеиновой, линоленовой, пальмитиновой кислот, а также их сложных эфиров [33].

Обнаруженные вещества характеризуются различной фармакологической активностью. Например, в составе фракции ЭК1 выявлен эйкозан (табл. 2), относящийся к классу алканов и обладающий мощным антиоксидантным действием [34]. В зависимости от места произрастания сырья содержание данного компонента может варьироваться от 4,5 до 17,8 % [33]. Большая часть терпеновых эфиров обладает противомикробной или противовирусной активностью. Для идентифицированного в составе той же фракции люпеола и лупейл ацетата доказана противоопухолевая и апоптозная активность [35]. В этой фракции обнаружены и другие вещества, но в значительно меньших количествах (менее 1 % от суммы обнаруженных соединений, не приведены в табл. 2), однако имеющих высокую биологическую активность: (Е)-5-октадецен – антибактериальную [36], 2-пентадеканон, 6,10,14-триметил- (CAS); н-тетракозанол-1 – антиоксидантную [37–39]; 9,19-циклоланост-24-ен-3-ол, (3,бета,-) – подавляющую секрецию противовоспалительных цитокинов [40].

Во фракции ЭК3 присутствуют вещества, проявляющие сильную антибактериальную активность, в частности тридеканал, гептадеканал [41], 1-трикозанол [42]. Для фракции ЭК6 отмечено высокое содержание веществ с противомикробной и противовоспалительной активностью: 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадецен-1-ол и неофитадиен [43, 44]. Фракция Э8 наряду с указанными в таблице 2 компонентами содержит уникальные вещества: 6,10,13-триметилтетрадеканол, обладающий антигенными свойствами [45], и детиобитин, являющийся стимулятором роста микроорганизмов [46].

Фракция ЭО1 CO_2 -экстракта *T. officinale* более чем на 70 % (от суммы обнаруженных веществ) состоит из карбоновых кислот и их эфиров. Из терпеновых соединений представлен фитол (табл. 3), входящий в состав хлорофилла, витаминов Е и К, служащий стимулятором роста молочнокислых бактерий [47]. Присутствует большое количество циклических соединений (7,67 %). Для фракции ЭО4 характерно повышенное содержание терпеновых веществ и фитостеролов: 19,10 и 6,19 % соответственно от суммы выявленных компонентов. Присутствуют вещества с антиокислительной способностью: 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадецен-1-ол; альфа-амирин [43, 48].

Влияние длительности хранения на спектральные характеристики CO_2 -экстрактов *T. officinale* и *T. pratense*. Продолжительность хранения / использования CO_2 -экстрактов может отразиться на их химическом составе. Исследовали спектрограммы и химический состав образцов CO_2 -экстрактов *T. officinale* фракции ЭО1 и *T. pratense* L. фракций ЭК1, ЭК2, ЭК3 (расшифровка кодировки в табл. 1) непосредственно после получения (контроль 1) и спустя 30 суток хранения при различных параметрах: температура 2–4 °С без доступа света (контроль 2) и температура 20–24 °С в условиях естественной освещенности в прозрачной

таре (опытные варианты *T. officinale* ЭО1.1, *T. pratense* ЭК1.1; ЭК2.1; ЭК3.1). Результаты представлены на рисунке 2 и в таблице 4.

Изменений в качественно-количественном составе CO_2 -экстрактов контрольных образцов 1 и хранившихся при низкой температуре в отсутствии прямого солнечного света (контроль 2) не наблюдалось (на рис. 2 представлены данные для образцов контроля 1 – ЭО1, ЭК1, ЭК2, ЭК3). В то же время полученные результаты свидетельствуют об изменении отдельных групп веществ (снижении их содержания, превращении в другие соединения) в процессе хранения опытных образцов в сравнении с контрольными. Причина, вероятно, связана с процессами окисления, полимеризации индивидуальных представителей фенольных и других групп соединений под воздействием факторов окружающей среды: неоптимальной температуры, солнечного света, кислорода. В исследованиях [49–52] также отмечается уменьшение концентрации и преобразования полифенолов, флавоноидов, компонентов эфирных масел растительных экстрактов с увеличением температуры (в диапазоне 0–25 °С), длительности хранения (до 6–12 месяцев), доступа кислорода, воздуха и света. В условиях эксперимента трансформация отдельных компонентов CO_2 -экстрактов приводила к появлению веществ, которые при дальнейшей обработке дрожжей, возможно, окажут негативное влияние на жизненную активность культуры.

Оценка микробиологического состояния CO_2 -экстрактов и дрожжевой культуры. CO_2 -экстракты, используемые для обработки дрожжей, должны не только проявлять эффективность воздействия с точки зрения активации культуры, но и быть микробиологически безопасными для нее. Задача данного этапа исследования – оценка микробиологических показателей CO_2 -экстрактов и дрожжевой культуры после обработки экстрактами.

С учетом приведенных выше данных по изменению отдельных групп веществ в экстрактах в процессе хранения / использования (рис. 2, табл. 4) были выполнены посевы на среду МПА CO_2 -экстрактов *T. officinale* и *T. pratense*, полученных сразу после окончания экстрагирования и после 30 суток хранения при температуре 20–24 °С и доступа света. В экстрактах, хранившихся в течение месяца (ЭО1.1, ЭК1.1, ЭК2.1, ЭК3.1), обнаружены палочковидные грамотрицательные бактерии (рис. 3, табл. 5). При посеве свежеприготовленных экстрактов (ЭО1, ЭК1, ЭК2, ЭК3) посторонняя микрофлора в пробах отсутствовала.

В дрожжах, обработанных 1 % растворами ЭО1.1, ЭК1.1, ЭК2.1, ЭК3.1, при посеве на среду Сабуро обнаружен рост палочковидных бактерий (рис. 4 и табл. 6, из указанного перечня образцов представлен ЭО1.1). Одной из возможных причин данной микробиологической картины является изменение химического состава и снижение и / или полная утрата антиоксидантной и антимикробной активности CO_2 -экстрактов

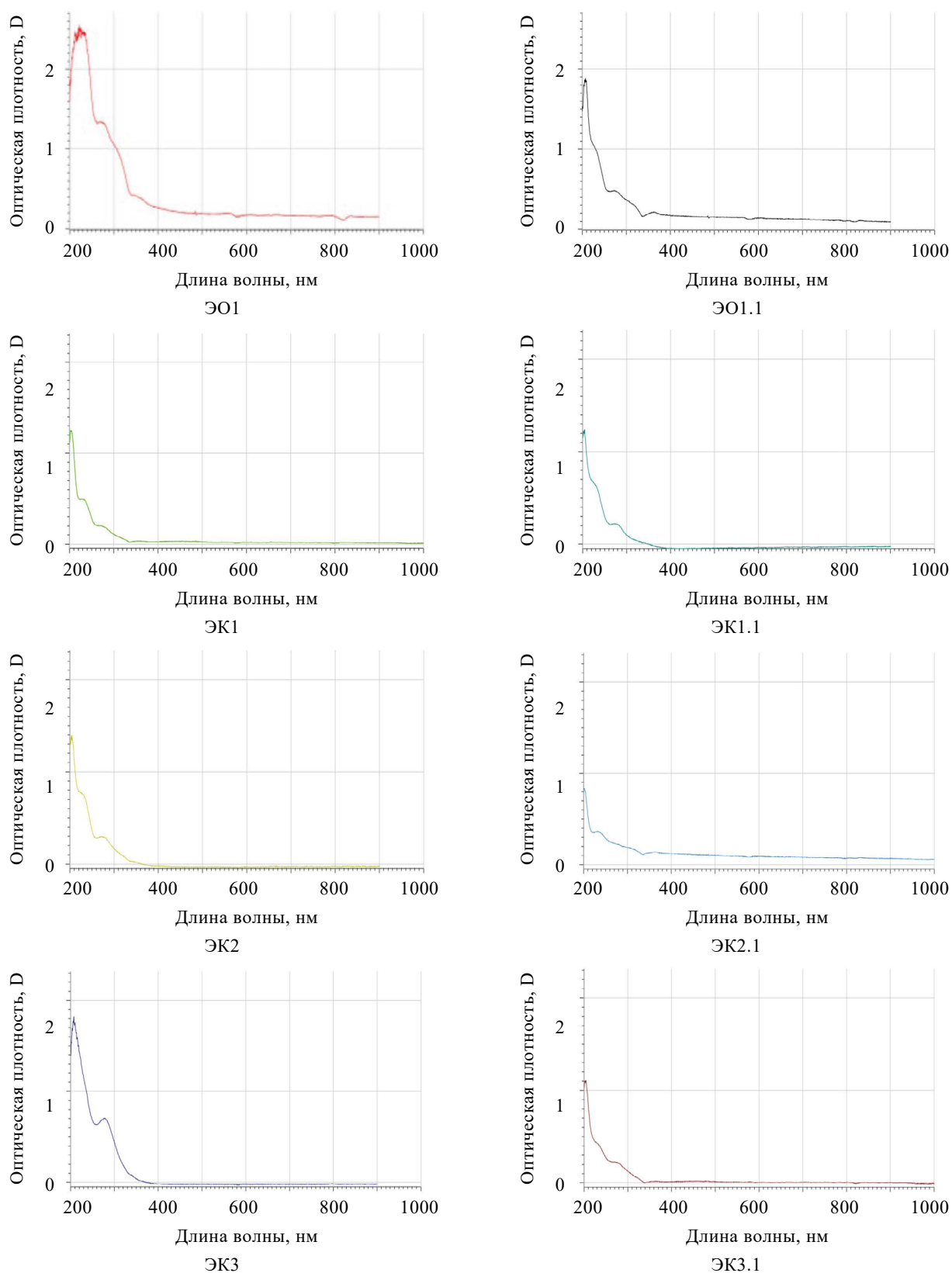


Рисунок 2. Спектрограммы образцов CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L. непосредственно после получения (ЭО1, ЭК1, ЭК2, ЭК3) и через 30 суток хранения при температуре 20–24 °C и доступе света (ЭО1.1, ЭК1.1, ЭК2.1, ЭК3.1)

Figure 2. Spectrograms of fresh CO₂ extracts of *Taraxacum officinale* Wigg. and *Trifolium pratense* L. vs. on storage day 30 at 20–24°C and different light modes

Таблица 4. Влияние хранения CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L. на качественный состав отдельных групп БАВ

Table 4. Effects of storage of CO₂ extracts of *Taraxacum officinale* Wigg. and *Trifolium pratense* L. on composition of individual bioactive groups

Образец исходный / после хранения	Длина волны, нм	Предполагаемая группа веществ	Изменение после хранения
ЭО1/ЭО1.1	200–300	Изофлавоноиды [53]	Значительный спад высоты пика – снижение концентрации веществ группы изофлавоноидов
	300–400	Хлорогеновая кислота и производные формы цинарода (лютеолозид) [54, 55]	Изменение характерных пиков более выражен при 370 нм – возможная перегруппировка веществ
ЭО1/ЭО1.1	450–500	Пигменты [56]	Пик менее выражен – снижение концентрации веществ данной группы
	217	Кафтаровая кислота [54]	Меньшая высота пика – возможно снижение концентрации кафтаровой кислоты
ЭК1/ЭК1.1	200–300	Изофлавоноиды [53]	Пик сглажен – снижение концентрации веществ данной группы
	217	Кафтаровая кислота [54]	Значительный спад высоты пика – снижение концентрации кафтаровой кислоты
ЭК2/ЭК2.1	200–300	Изофлавоноиды [53]	Смещение пика в 300–400 нм – изомеризация веществ данной группы, возможно новообразование производных форм лютеолозида
	217	Кафтаровая кислота [54]	Значительное изменение характерного пика – преобразование в другое соединение фенольной группы веществ (спектр не идентифицирован)
ЭК3/ЭК3.1	200–300	Изофлавоноиды [53]	Изменение характерных пиков более активных групп выражен при 370 нм – вероятно перегруппировка веществ



Рисунок 3. Чашки Петри с посевом CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. (ЭО1.1) и *Trifolium pratense* L. (ЭК1.1, ЭК3.1) на среду МПА

Figure 3. Petri dishes seeded with CO₂ extracts of *Taraxacum officinale* Wigg. and *Trifolium pratense* L. on meat infusion agar

вследствие окисления, полимеризации фенольных и иных веществ, изначально обладающих указанными свойствами. Низкая антимикробная активность или ее деградация создает предпосылки для развития микрофлоры на этапе использования CO₂-экстрактов. На подобную тенденцию к потере биологической активности в процессе хранения растительных экстрактов указывают и другие исследования [49, 50, 52]. В посевах образцов дрожжей после обработки растворами свежеполученных экстрактов (ЭО1, ЭК1, ЭК2, ЭК3) присутствовали колонии только основной культуры без наличия посторонней микрофлоры (рис. 4 и табл. 6, из приведенного перечня образцов приведен ЭК1).

Разница в количестве клеток обработанных дрожжей и в контроле визуально не видна.

Влияние CO₂-экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* на ферментативную и физиологическую активность дрожжей. Задачей данного этапа исследования являлось выявление закономерностей и определение рациональных параметров воздействия CO₂-экстрактов растительного сырья на ферментативный потенциал и физиологическое состояние дрожжевой культуры. Для обработки водно-дрожжевой суспензии (1:1) использовали жидкие CO₂-экстракты *T. officinale* и *T. pratense*, что обусловлено простотой использования и приготовления из них водных растворов.

Таблица 5. Морфологическая характеристика и культуральные свойства CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L. (посев на среду МПА)Table 5. Morphology and cultural properties of CO₂ extracts of *Taraxacum officinale* Wigg. and *Trifolium pratense* L. on meat infusion agar

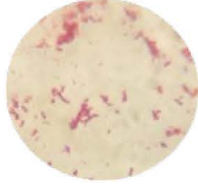
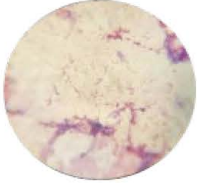
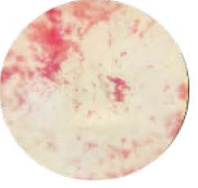
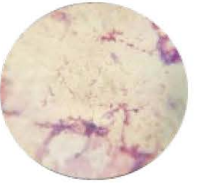
	Образец			
	ЭО1.1	ЭК1.1	ЭК3.1	
				
Колонии при световой микроскопии				
Микроскопическая картина				
Форма колонии	—	Ризоидная	Круглая	Круглая
Размер	—	Крупный	Мелкий	Мелкий
Цвет	Белый	Белый	Белый	Желтый
Рельеф	Плоский	Кратерообразный	Выпуклый	Выпуклый
Поверхность	Гладкая	Морщинистая	Гладкая	Гладкая
Прозрачность	Полупрозрачная	Непрозрачная	Непрозрачная	Непрозрачная
Характер края	Гладкий	Волнистый	Гладкий	Гладкий
Структура	Гомогенная	Однородная	Однородная	Однородная
Консистенция	Сухая	Кожистая	Вязкая	Вязкая
Наименование микроорганизма	Палочковидные бактерии Г ⁻	Палочковидные бактерии Г ⁻	Палочковидные бактерии Г ⁻	Кокки



Рисунок 4. Чашки Петри с посевом дрожжей на среду Сабуро (контроль – дрожжи, необработанные экстрактами)

Figure 4. Petri dishes with yeast seeding on Saburo medium vs. untreated control

Воскоподобные CO₂-экстракты требуют растворения в спирте. Дальнейшее применение в таком виде для обработки дрожжевой культуры может негативно отразиться на ее жизнеспособности.

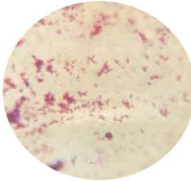
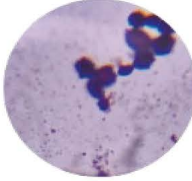
Воздействие на дрожжевую суспензию осуществляли CO₂-экстрактами *T. officinale* и *T. pratense*, полученными при давлении экстракции 15,0 и 8,0 МПа (фракция ЭО1 – экстракт одуванчика и ЭК1 – экстракт клевера), в виде 1 % водного раствора, добавляемого в разных количествах (%) к объему дрожжей. Выдержка 30 мин выбрана в соответствии с особенностями подготовки дрожжей в условиях производства [1–5] с последующим отбором проб для оценки бродильной активности (характеризует активность комплекса ферментов,

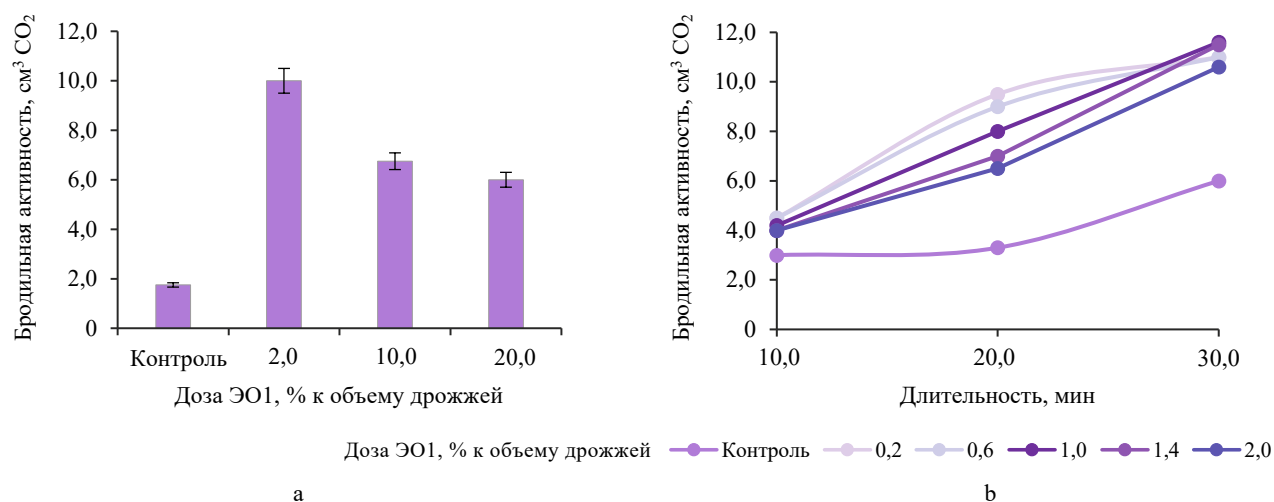
катализирующих спиртовое брожение) и показателей физиологического состояния биомассы.

Использование дозировок ЭО1 в диапазоне 2–20 % к объему дрожжей повысило бродильную активность культуры от 5,7 (при дозе 2 %) до 3,4 раз (при дозе 20 %) по отношению к контролю (дрожжи без обработки) (рис. 5а). Снижение дозы ЭО1 в 10 раз (0,2–2,0 %) также обеспечивает высокий уровень стимуляции биокаталитического потенциала дрожжей, но в меньшей степени (рис. 5б), в среднем в 2,2 раза. В этом интервале дозировок более эффективной оказалась обработка дрожжей ЭО1 в количестве 0,2–1,0 % к объему суспензии: активность возрастала в 2,4–2,5 раза по отношению к контролю.

Таблица 6. Морфологическая характеристика и культуральные свойства дрожжей после обработки экстрактами (посев на среду Сабуро, контроль – дрожжи, необработанные экстрактами)

Table 6. Morphological characteristics and cultural properties of yeast after experimental treatment: Saburo medium vs. untreated control

	Образец		
	ЭО1.1	ЭК1	Контроль
Колонии при световой микроскопии			
Микроскопическая картина			
Форма колонии	–	Круглая	Круглая
Размер	–	Мелкий	Мелкий
Цвет	Белый	Желтый	Желтый
Рельеф	Плоский	Выпуклый	Выпуклый
Поверхность	Гладкая	Гладкая	Гладкая
Прозрачность	Полупрозрачная	Непрозрачная	Непрозрачная
Характер края	Гладкий	Гладкий	Гладкий
Структура	Гомогенная	Однородная	Однородная
Консистенция	Сухая	Вязкая	Вязкая
Наименование микроорганизма	Палочковидные бактерии Г ⁻	Дрожжи	Дрожжи

Рисунок 5. Бродильная активность дрожжей в зависимости от а) дозы CO₂-экстракта *Taraxacum officinale* Wigg. и б) длительности обработкиFigure 5. Fermentation activity of yeast depending on a) dose of CO₂ extract of *Taraxacum officinale* Wigg.; b) treatment time

При расширении диапазона количества вносимого CO₂-экстракта (от 0,2 до 20,0 %), но снижении концентрации водного раствора до 0,1 % наблюдался резкий спад (в 1,3–1,8 раза) бродильной активности опытных образцов в сравнении с контролем. Значительное увеличение дозы ЭО1 (40 и 80 % к объему дрожжевой

суспензии) и концентрации водного раствора до 1,0 % положительного действия на активность ферментов не оказало: в опытных образцах бродильная активность была в 4,0 и 16,0 раз ниже, чем в контрольном варианте.

Наиболее вероятная причина отсутствия эффекта связана с длительным использованием экстракта (в течение

ние месяца). Анализ спектрограмм ЭО1 до и после хранения – ЭО1 и ЭО1.1 соответственно (рис. 2, табл. 4) свидетельствует о снижении количества идентифицированных веществ, в том числе оказывающих благоприятное воздействие на дрожжевую культуру. Наряду с этим возможно новообразование других соединений с низкой биологической активностью и / или угнетающих дрожжи. Кроме того, обнаружено инфицирование фракции ЭО1.1 посторонней микрофлорой (рис. 3, табл. 5), что также негативно отражалось на жизнедеятельности обработанных дрожжей. С учетом этого важно соблюдать параметры хранения и использования CO_2 -экстрактов.

Принимая во внимание достаточно высокий уровень ферментативной активности дрожжей после воздействия CO_2 -экстрактом *T. officinale* в относительно низких дозировках (рис. 5b), дальнейшее исследование с CO_2 -экстрактом *T. pratense* проводили в этом же диапазоне концентраций. Характер изменения биокаталитической активности после воздействия на дрожжи 1 % водного раствора фракции ЭК1 CO_2 -экстракта *T. pratense* в количестве 0,2–2,0 % к объему микробной суспензии аналогичен обработке CO_2 -экстрактом *T. officinale*. Бродильная активность дрожжевой культуры также возрастала, но в сравнении с ЭО1 той же концентрации и дозировки (рис. 5b) в меньшей степени (в среднем в 1,5 и в 2,5 раза соответственно). Во всех случаях (ЭО1 и ЭК1) уже через 20 мин обработки разница в ферментативной активности между опытными и контрольным вариантами видна, значение показателя находилось на высоком уровне, что позволяет ограничиться длительностью воздействия CO_2 -экстрактов, равной 20–30 мин. Это также согласуется с рекомендуемым временем активации дрожжей в других исследованиях и в условиях производства [1–5].

Для более глубокого изучения процесса активации дрожжевой культуры провели оценку взаимосвязи между параметрами получения CO_2 -экстрактов (рабочим давлением и давлением в сепараторах, табл. 2)

и их влиянием на ферментативную активность дрожжей (рис. 6). Для обработки культуры использовали CO_2 -экстракты *T. officinale* и *T. pratense* в однотипной концентрации водного раствора (1 %) и дозировке (2 % к объему дрожжевой суспензии).

CO_2 -экстракты исследуемого сырья, полученные при давлении в экстракторе 15,0 МПа и давлении в сепараторе 5,0 МПа (ЭО2, ЭК4), изменяют бродильную активность в значительно меньшей степени (в 1,5–1,8 раза) в сравнении с экстрактами, извлеченными при других параметрах. Однако при том же рабочем давлении, но величине давления в сепараторе ниже (4,0 МПа) в случае CO_2 -экстракта *T. officinale* (ЭО3) наблюдается максимальный рост ферментативной активности. Чуть ниже эффективность воздействия на дрожжи фракции ЭО4, извлеченной при давлении рабочем 20,0 МПа и в сепараторе – 5,0 МПа.

Особой разницы в результативности действия CO_2 -экстрактов *T. pratense*, полученных при однотипном рабочем давлении 8,0 МПа и давлении в сепараторе 4,0 (ЭК2) и 6,0 (ЭК1) МПа, не выявлено. В то же время эти параметры обеспечили в среднем 50 % прирост бродильной активности по отношению к рабочему давлению – 15,0 и в сепараторе – 5,0 МПа (ЭК4). В среднем биокаталитический потенциал дрожжей при обработке исследуемыми CO_2 -экстрактами в 2 раза больше, чем в контроле, при этом эффективность воздействия CO_2 -экстрактов *T. officinale* на 22 % выше, чем *T. pratense*.

Наблюдаемые изменения в уровне ферментативной активности обусловлены качественно-количественным составом веществ, присутствующих в отдельных фракциях (табл. 2, 3). Например, одним из факторов, стимулирующих активность дрожжей в случае обработки CO_2 -экстрактами *T. officinale*, является наличие в них фитостеролов, являющихся важнейшими компонентами клеточных мембран.

Трансформация условий внешней среды в совокупности с внутриклеточными метаболическими

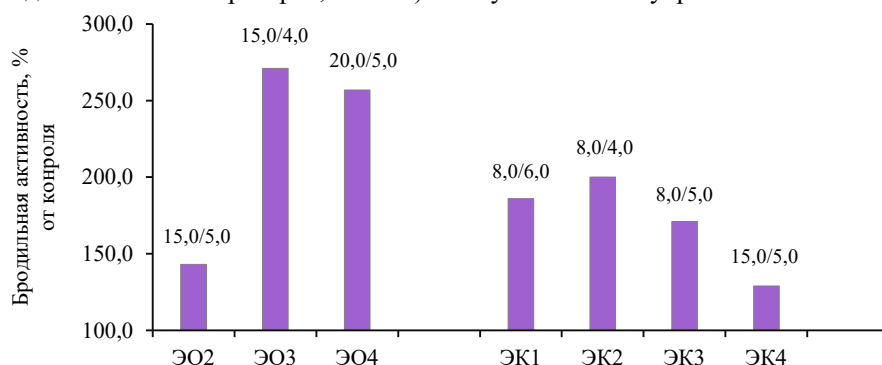


Рисунок 6. Бродильная активность дрожжей в зависимости от параметров получения CO_2 -экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. (ЭО2, ЭО3, ЭО4) и *Trifolium pratense* L. (ЭК1, ЭК2, ЭК3, ЭК4) (цифры сверху – значение давления, МПа, рабочего / в сепараторе)

Figure 6. Effect of parameters of CO_2 extracts of *Taraxacum officinale* Wigg. and *Trifolium pratense* L. on fermentation activity of yeast (the numbers above indicate the pressure, MPa, working pressure / in the separator)

процессами приводит к выработке клетками активных форм кислорода и вызывает окислительный стресс дрожжей, что в дальнейшем отрицательно отражается на протекании технологических процессов, выходе готового продукта и его качестве [57, 58]. Присутствие в экстрактах компонентов с антиоксидантной активностью позволяет предотвратить образование активных форм кислорода и тем самым окислительный стресс. В то же время угнетение культуры могут вызывать вещества с антибактериальным действием, в частности присутствие в ЭК1 гептадеканала.

Приведенные результаты показывают, что для получения CO_2 -экстрактов *T. officinale* наиболее эффективно использовать рабочее давление 15,0 и 20,0 МПа и давление в сепараторе 4,0 и 5,0 МПа соответственно. Для экстрактов *T. pratense* оптимальными являются рабочее давление 8,0 МПа и давление в сепараторе 4,0–6,0 МПа.

Выявлено положительное влияние CO_2 -экстрактов на физиологическое состояние дрожжей, обработанных 1 % растворами ЭО1 и ЭК1. В результате воздействия ЭО1 в интервале дозировок от 0,2 до 2,0 % к объему дрожжевой суспензии количество нежизнеспособных клеток снизилось на 21–57 % в сравнении с контрольным образцом (дрожжи без обработки), содержание почкующихся клеток возросло в 3–5 раз. Аналогичная тенденция наблюдалась при обработке дрожжей ЭК1 в тех же дозах, однако результативность была несколько ниже, чем в случае ЭО1: снижение концентрации мертвых клеток в среднем составило 25 % по отношению к контролю, прирост активно размножающихся клеток – в 2,5 раза. Изменение количества почкующихся клеток после обработки CO_2 -экстрактом *T. officinale* согласуется с результатами, полученными после воздействия на спиртовые дрожжи сока из того же сырья. В последнем случае увеличение почкующихся клеток составило лишь 9 % [24], что подтверждает высокую эффективность извлечения БАВ методом СКФЭ в сравнении с другими способами.

Выводы

Для *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L. рациональным параметром флюидной экстракции является проведение процесса при низком давлении, позволяющем получить CO_2 -экстракты в жидком состоянии, что упрощает их использование для активации дрожжевой культуры. Химический состав извлеченных фракций CO_2 -экстрактов представляет сложную смесь жирных кислот и их эфиров, кислородсодержащих эфиров, углеводов, фенольных соединений разных типов.

Анализ микробиологических показателей CO_2 -экстрактов, хранившихся в течение месяца при температуре 20–24 °С, выявил наличие в пробах палочковидных бактерий, что связано с неоптимальными параметрами хранения образцов и возможной деградацией в этих условиях БАВ, включая антимикробные соединения.

В свежеполученных экстрактах отсутствуют загрязнения микробиологического характера. Потенциальная обсемененность CO_2 -экстрактов должна учитываться при активации дрожжей. Для минимизации окислительных процессов и сохранения биологической активности CO_2 -экстрактов на этапе хранения необходимо поддерживать температурный режим (2–4 °С) и отсутствие солнечного света.

Обработка дрожжей водными растворами CO_2 -экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* в условиях рациональных параметров (дозировка от 0,2 до 2,0 % к объему биомассы, длительность экспозиции 20–30 мин) способствует повышению бродильной активности клеток (в среднем в 2,2 раза) и благоприятно отражается на показателях физиологического состояния культуры. Это позволяет говорить о целесообразности использования CO_2 -экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* в качестве биостимулирующих добавок.

Критерии авторства

Л. В. Пермякова – существенный вклад в концепцию и постановку исследования, переработка первого варианта статьи, обработка результатов проекта; Л. А. Рябоконева – получение экспериментальных результатов, проведение СКФЭ, анализ полученных фракций (определение показателя преломления, химического состава), написание первого варианта рукописи; И. Ю. Сергеева – обработка полученных результатов и редактирование статьи, окончательное утверждение версии для публикации; С. С. Лашицкий – получение экспериментальных результатов исследования микробиологического состояния экстрактов и оценка их влияния на ферментативную и физиологическую активность дрожжей; Я. Ли – обсуждение и верификация результатов эксперимента; Ю. Хуан – верификация результатов эксперимента.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что не имеют конфликта интересов, который мог бы повлиять на результаты и интерпретацию представленного исследования.

Contribution

L.V. Permyakova developed the research concept and design, proofread the draft, and processed the results; L.A. Ryabokoneva obtained experimental results, conducted the SCFE experiment, analyzed the obtained fractions for the refractive index and chemical composition, and drafted the manuscript; I.Yu. Sergeeva processed the results and proofread the manuscript; S.S. Lashitskiy obtained the experimental results and assessed the enzymatic and physiological activity of yeast; Y. Li and Y. Huang verified the experimental results.

Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Пермякова Л. В. Классификация стимуляторов жизненной активности дрожжей. Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 42. № 3. С. 46–55. [Permyakova LV. Classification of preparatiopns to promote yeast vital activity. Food Processing: Techniques and Technology. 2016;42(3):46–55. (In Russ.)]
2. Клиндухова Ю. О. Совершенствование технологии хлебобулочных изделий с использованием продуктов переработки хмеля. Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2012. № 2–3. С. 33. [Klindukhova YuO. Improving the technology of bakery products using hop processing products. Izvestiya vuzov. Food technology. 2012;(2–3):33. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/PAMCJB>
3. Palagina MV, Plekhova NG, Cherevach EI. The influence of plant extracts on the functional activity and intracellular metabolite of brewer's yeast. International Journal of Applied and Fundamental Research. 2012;(2).
4. Sergeeva I, Permyakova L, Markov A, Ryabokoneva L, Atuchin V, et al. Peptides of yeast *Saccharomyces cerevisiae* activated by the aquatic extract of *Atriplex sibirica* L. ACS Food Science & Technology. 2024;4(1):173–189. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.3c00455>
5. Кузьмина С. С., Козубаева Л. А., Егорова Е. Ю., Кулустаева Б. М., Смольникова Ф. Х. Активность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в условиях стресс-провокации плодово-ягодными экстрактами. Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 4. С. 819–831. [Kuzmina SS, Kozubaeva LA, Egorova EYu, Kulushtayeva BM, Smolnikova FKh. Effect of berry extracts on *Saccharomyces cerevisiae* yeast. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):819–831. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-819-831>
6. Садикова М. И., Мухамадиев Б. Т. Использование плодовоовощных криопорошков в пищевой технологии. Universum: Химия и биология. 2021. № 4. С. 46–49. [Sadikova MI, Muhammadiyev BT. Use of fruit vegetable cryopowders in food technology. Universum: Chemistry and Biology. 2021;(4):46–49. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/LMMQIQ>
7. Krikunova LN, Meleshkina EP, Vitol IS, Dubinina EV, Obodeeva ON. Grain bran hydrolysates in the production of fruit distillates. Foods and Raw Materials. 2023;11(1):35–42. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-550>
8. Laila U, Kaur J, Sharma K, Singh J, Rasane P, et al. Dandelion (*Taraxacum officinale*): A promising source of nutritional and therapeutic compounds. Recent Advances in Food, Nutrition & Agriculture. 2025;16(1):41–56. <https://doi.org/10.2174/012772574X293072240217185616>
9. Евстафьев С. Н., Тигунцева Н. П. Биологически активные вещества одуванчика лекарственного *Taraxacum officinale* Wigg. (обзор). Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2014. №1. С. 18–29. [Evstafey SN, Tiguntseva NP. Biologically active substances of dandelion *Taraxacum officinale* Wigg. (Review). Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2014;(1):18–29. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/SADNOV>
10. Платонов В. В., Хадарцев А. А., Валентинов Б. Г., Сухих Г. Т., Дунаев В. А. и др. Химический состав гексанового экстракта корней дикорастущего одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinalic* Wigg., семейство астровые – *Asteraceae*). Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2022. Т. 16. № 2. С. 106–126. [Platonov VV, Khadartsev AA, Valentinov BG, Sukhikh GT, Dunaev VA, et al. Chemical composition of hexane extract of wild dandelion root (*Taraxacum officinalic* Wigg., *Asteraceae* family). Journal of new medical technologies, eEdition. 2022;16(2):106–126. (In Russ.)] <https://doi.org/10.24412/2075-4094-2022-2-3-3>
11. Milovanović S, Grzegorzczak A, Świątek Ł, Boguszewska A, Kowalski R, et al. Phenolic, tocopherol, and essential fatty acid-rich extracts from dandelion seeds: Chemical composition and biological activity. Food and Bioproducts Processing. 2023;142:70–81. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2023.09.005>
12. Шевцов А. А., Дранников А. В., Дерканосова А. А., Торшина А. А., Ориничева А. А., и др. Исследование кормовой белковой добавки из растительного сырья со свойствами фитобиотика. Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2020. Т. 82. № 3. С. 65–70. [Shevtsov AA, Drannikov AV, Derkanosova AA, Torshina AA, Orinicheva AA, et al. Study of a fodder protein supplement from plant raw materials with phytobiotic properties. Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2020;82(3):65–70. (In Russ.)] <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-3-65-70>
13. Жалолов И. Ж., Абдурахмонова С. Б. Исследование макро- и микроэлементов растения *Trifolium pratense* методом ICP-MS. Universum: Химия и биология. 2023. Т. 2–1. С. 35–38. [Jalolov I, Abdurahmonova S. Investigation of macro and micro elements of the plant *Trifolium pratense* by the ICP-MS method. Universum: Chemistry and Biology. 2023;2–1:35–38. (In Russ.)] <https://doi.org/10.32743/UniChem.2023.104.2.14909>
14. Belashova OV, Kozlova OV, Velichkovich NS, Fokina AD, Yustratov VP, et al. A phytochemical study of the clover growing in Kuzbass. Foods and Raw Materials. 2024;12(1):194–206. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-1-599>
15. Бекузарова С. А., Шабанова И. А. Семеноводство клевера лугового. Владикавказ: Издательство ФГБОУ ВО «Горский госагроуниверситет»; 2020. 224 с. [Bekuzarova SA, Shabanova IA. Seed production of red clover. Vladikavkaz: Izdatel'stvo FGBOU VO "Gorsk State Agrarian University"; 2020. 224 p. (In Russ.)]
16. Андреева В. Ю., Калинкина Г. И., Полуэктова Т. В., Гуляева В. А. Сравнительное исследование фенольных соединений видов рода клевер (*Trifolium* L.) флоры Сибири. Химия растительного сырья. 2018. № 1. С. 97–104. [Andreeva VYu, Kalinkina GI, Poluektova TV, Guliaeva VA. The comparative study of phenolic compounds in *Trifolium* L. species in Siberia. Chemistry of plant raw material. 2018;(1):97–104. (In Russ.)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018011846>

17. Коничев А. С., Баурин П. В., Федоровский Н. Н., Марахова А. И., Якубович Л. М. и др. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки. Вестник московского государственного областного университета. Серия: естественные науки. 2011. № 3. С. 49–54. [Konichev A, Baurin P, Fedorovskiy N, Marakhova A, Yakubovich L, *et al.* Traditional and modern methods of extraction of biology active substances from plant materials: Perspective, dignities, limitations. Bulletin of the MSRU. Series: Natural sciences. 2011;(3):49–54. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/OFOKXD>
18. Abubakar AR, Haque M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. 2020;12(1):1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
19. Абашкин И. А., Елеев Ю. А., Глухан Е. Н., Кучинский Е. В., Афанасьев В. В. Методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья (обзор). Химия и технология органических веществ. 2021. № 2. С. 43–59. [Abashkin IA, Eleev YuA, Glukhan EN, Kuchinsky EV, Afanasyev VV. Extraction methods for biologically active substances from plant materials (Review). Chemistry and Technology of Organic Substances. 2021;(2):43–59. (In Russ.)] https://doi.org/10.54468/25876724_2021_2_43
20. Елапов А. А., Кузнецов Н. Н., Марахова А. И. Применение ультразвука в экстракции биологически активных соединений из растительного сырья, применяемого или перспективного для применения в медицине (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10. № 4. С. 96–116. [Elapov AA, Kuznetsov NN, Marakhova AI. The use of ultrasound in the extraction of biologically active compounds from plant raw materials, used or promising for use in medicine (Review). Drug development & registration. 2021;10(4):96–116. (In Russ.)] <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-96-116>
21. Старокадомский Д., Титенко А., Камарали А., Куц В., Малоштан С. и др. Обзор научных работ по технологиям экстрагирования биоконпонентов из растительного сырья. Сверхкритическая CO₂-экстракция – эффективный новый метод решения глобальной проблемы утилизации и качества растительного и органического сырья. “GLOBUS” Технические науки. 2021. Т. 7. № 3. С. 9–24. [Starokadomsky D, Titenko A, Kamarali A, Kuts V, Maloshtan S, Barkholenko V. *et al.* Review of scientific works on technologies for extraction of biocomponents from vegetable raw materials. Supercritical CO₂ extraction is an effective new method for solving the global problem of utilization and quality of plant and organic raw materials. Globus: Technical sciences. 2021;7(3):9–24. (In Russ.)] <https://doi.org/10.52013/2713-3079-39-3-2>
22. Tzima S, Georgiopolou I, Louli V, Magoulas K. Recent advances in supercritical CO₂ extraction of pigments, lipids and bioactive compounds from microalgae. Molecules. 2023;28(3):1410. <https://doi.org/10.3390/molecules28031410>
23. Zoccali M, Donato P, Mondello L. Recent advances in the coupling of carbon dioxide-based extraction and separation techniques. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2019;116:158–165. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.028>
24. Калужина О. Ю. Содержание биологически активных веществ в экстракте одуванчика и его влияние на физиологию дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Известия оренбургского государственного аграрного университета. 2013. № 5. С. 197–199. [Kaluzhina OYu. The content of biologically active elements in the dandelion extract and its impact on the physiology of yeasts *Saccaromyces cerevisiae*. Izvestia Orenburg State Agrarian University. 2013;(5):197–199. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/RHAAWN>
25. Пермякова Л. В., Сергеева И. Ю., Рябokonева Л. А., Лашицкий С. С. Применение CO₂-шротов как стимуляторов жизненной активности пивных дрожжей. АПК России. 2025. Т. 32. № 1. С. 113–120. [Permyakova LV, Sergeeva IY, Ryabokoneva LA, Lashitsky SS. Application of CO₂-ferments as stimulators of vital activity of brewer's yeast. Agro-industrial complex of Russia. 2025;32(1):113–120. (In Russ.)] <https://doi.org/10.55934/2587-8824-2025-32-1-113-120>
26. Качмазов Г. С. Дрожжи броидильных производств. Практическое руководство. СПб: Лань; 2022. 224 с. [Kachmazov GS. Yeasts of fermentation industries. Practical guide: Study guide. St. Petersburg: Lan'; 2022. 224 p.]
27. Давыденко С. Г. Создание и применение нового экспресс-метода оценки качества семенных дрожжей. Пиво и напитки. 2012. № 5. С. 20–23. [Davydenko SG. The creation and application of a new rapid method of assessing the quality of the seed yeast. Beer and beverages. 2012;(5):20–23. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/PDHVLR>
28. Соболев И. В., Родионова Л. Я., Барышева И. Н. Изучение возможности получения пектиновых экстрактов высокой чистоты. Политематический сетевой электронный научный журнал кубанского государственного аграрного университета. 2016. № 123. С. 79–89. [Sobol IV, Rodionova LYa, Barisheva IN. Exploring the possibility of obtaining pectin extracts of high purity. Polythematic online scientific journal of Kuban STATE agrarian University. 2016;(123):79–89. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21515/1990-4665-123-004>
29. Струпан Е. А., Типсина Н. Н., Струпан О. А. Химический состав дикорастущего лекарственного сырья, произрастающего в Красноярском крае. Вестник КрасГАУ. 2008. № 1. С. 124–126. [Strupan EA, Tipsina NN, Strupan OA. Chemical composition of wild medicinal raw materials growing in Krasnoyarsk Krai. Bulletin of KSAU. 2008;(1):124–126. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/IIRHDB>
30. Daneshnia F, Amini A, Chaichi MR. Berseem clover quality and basil essential oil yield in intercropping system under limited irrigation treatments with surfactant. Agricultural Water Management. 2016;164(Part 2):331–339. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.10.036>
31. Butkutė B, Lemežienė N, Padarauskas A, Norkevičienė E, Taujenis L. Chemical composition of zigzag clover (*Trifolium medium* L.). Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics. 2018. pp. 83–87. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89578-9_15

32. Kolodziejczyk-Czepas J. Trifolium species – The latest findings on chemical profile, ethnomedicinal use and pharmacological properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2016;68(7):845–861. <https://doi.org/10.1111/jphp.12568>
33. Sabudak T, Ozturk M, Goren AC, Kolak U, Topcu G. Fatty acids and other lipid composition of five *Trifolium* species with antioxidant activity. Pharmaceutical Biology. 2009;47(2):137–141. <https://doi.org/10.1080/13880200802439343>
34. Uddin MR, Akhter F, Abedin J, Shaikh AA, Al Mansur MA, et al. Comprehensive analysis of phytochemical profiling, cytotoxic and antioxidant potentials, and identification of bioactive constituents in methanolic extracts of *Sonneratia apetala* fruit. Heliyon. 2024;10(13):e33507. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33507>
35. Suwito H, Heffen WL, Cahyana H, Suwarso WP. Isolation, transformation, anticancer, and apoptosis activity of lupeyl acetate from *Artocarpus integra*. AIP Conference Proceedings. 2016;1718:080004. <https://doi.org/10.1063/1.4943339>
36. Scanu M, Toto F, Petito V, Masi L, Fidaleo M, et al. An integrative multi-omic analysis defines gut microbiota, mycobiota, and metabolic fingerprints in ulcerative colitis patients. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2024;14:1366192. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1366192>
37. Авдеева Е. Ю., Краснов Е. А., Шилова И. В. Компонентный состав фракции *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. с высокой антиоксидантной активностью. Химия растительного сырья. 2008 № 3. С. 115–118. [Avdeeva EYu, Krasnov EA, Shilova IV. Component composition of the fraction *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. with high antioxidant activity. Chemistry of plant raw materials. 2008;(3):115–118. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/JUVDAB>
38. Katanić J, Boroja T, Stanković N, Mihailović VB, Mladenović M, et al. Bioactivity, stability and phenolic characterization of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. Food & Function. 2015;6(4):1164–1175. <https://doi.org/10.1039/c4fo01208a>
39. Skanda S, Vijayakumar BS. Antioxidant and antibacterial potential of crude extract of soil fungus *Periconia* sp. (SSS-8). Arabian Journal for Science and Engineering. 2022;47(6):6707–6714. <https://doi.org/10.1007/s13369-021-06061-0>
40. Круглякова А. А., Раменская Г. В. Бета-ситостерин: свойства, подходы к количественному определению. Вестник национального медико-хирургического центра им. Н. И. Пирогова. 2016. Т. 11. № 4. С. 35–38. [Kruglyakova AA, Ramenskaya GV. Beta-sitosterin: Properties, approaches to quantitative analysis. Bulletin of Pirigov National Medical & Surgical Center. 2016;11(4):35–38. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/XVRTLN>
41. Siyumbwa SN, Ekeuku SO, Amini F, Emerald NM, Sharma D, et al. Wound healing and antibacterial activities of 2-Pentadecanone in streptozotocin-induced Type 2 diabetic rats. Pharmacognosy Magazine. 2019;15(62):71–77. https://doi.org/10.4103/pm.pm_444_18
42. Fujita K, Chavasiri W, Kubo I. Anti-*Salmonella* activity of volatile compounds of Vietnam coriander. Phytotherapy Research. 2015;29(7):1081–1087. <https://doi.org/10.1002/ptr.5351>
43. Akomolafe SF. Chemical composition, cytotoxic and antimicrobial activity of essential oil from *Tetracarpidium Conophorum* leaves. Journal of Food Science & Nutrition. 2024;10:181. <https://doi.org/10.24966/FSN-1076/100181>
44. Al-Rajhi AMH, Qanash H, Almuhayawi MS, Al Jaouni SK, Bakri MM, et al. Molecular interaction studies and phytochemical characterization of *Mentha pulegium* L. constituents with multiple biological utilities as antioxidant, antimicrobial, anticancer and anti-hemolytic agents. Molecules. 2022;27(15):4824. <https://doi.org/10.3390/molecules27154824>
45. Беленовская Л. М., Битюкова Н. В., Бобылева Н. С., Буданцев А. Л., Данчул Т. Ю. и др. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Дополнения к 1 тому. СПб, М.: Товарищество научных изданий КМК; 2018. 409 с. [Belenovskaya LM, Bitjukova NV, Bobyleva NS, Budancev AL, Danchul TYu, et al. Plant resources of Russia. Wild flowering plants, their component composition and biological activity. Supplements to Volume 1. St. Petersburg, Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK; 2018. 409 p.]
46. Макеева А. С., Сидорин А. В., Иштуганова В. В., Падкина М. В., Румянцев А. М. Влияние дефицита биотина на экспрессию генов в клетках дрожжей *Komagataella phaffii*. Биохимия. 2023. Т. 88. № 9. С. 1655–1666. [Makeeva AS, Sidorin AV, Ishtuganova VV, Padkina MV, Rummyantsev AM. Effect of biotin starvation on gene expression in *Komagataella phaffii* cells. Biochemistry. 2023;88(9):1655–1666. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31857/S0320972523090166>
47. Chen Y, Wang Y, He L, Wang L, Zhao J, et al. Zein/fucoidan-coated phytol nanoliposome: Preparation, characterization, physicochemical stability, *in vitro* release, and antioxidant activity. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2024;104(12):7536–7549. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13575>
48. Стоянова Я. В., Стреляева А. В., Кузнецов Р. М., Стреляев Н. Д., Боброва Е. И. Фармакогностическое изучение лекарственного растительного сырья травы пижмы обыкновенной и недопустимой примеси к сырью растений рода лютик. Вестник смоленской государственной медицинской академии. 2023. Т. 22. № 2. С. 215–222. [Stoyanova YaV, Strelyaeva AV, Kuznetsov RM, Strelyaev ND, Bobrova EI. Pharmacognostic study of herb of *Tanacetum vulgare* L. medicinal plant raw materials and unacceptable admixture of the genus ranunculus plants raw materials. Vestnik of the Smolensk State Medical Academy. 2023;22(2):215–222. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/PWKQWQ>
49. Mikiška A, Krofta K. Assessment of changes in hop resins and polyphenols during long-term storage. Journal of The Institute of Brewing. 2012;118(3):269–279. <https://doi.org/10.1002/jib.40>
50. Соловьёва Н. Л., Сокурёнка М. С. Технологии повышения стабильности полифенольных соединений в лекарственных препаратах (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 4. С. 82–91. [Solovieva NL, Sokurenko MS. Technologies to improve the stability of polyphenolic compounds in drug discovery (Review). Drug development & registration. 2016;(4):82–91. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/XCIYWU>

51. Курегян А. Г., Степанова Э. Ф., Печинский С. В., Оганесян Э. Т. Модель стабилизации субстанций каротиноидов. Хранение и переработка сельхозсырья. 2020. № 4. С. 55–66. [Kuregyan AG, Stepanova EF, Pechinsky SV, Oganesyanyan ET. Carotenoid substance stabilization model. Storage and Processing of Farm Products. 2020;(4):55–66. (In Russ.)] <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.345>
52. Shi L, Zhao W, Yang Z, Subbiah V, Suleria HAR. Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. Environmental Science and Pollution Research. 2022;29(54):81112–81129. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23337-6>
53. Куркин В. А., Цибина А. С. Новые подходы к стандартизации травы монарды дудчатой. Тонкие химические технологии. 2020. Т. 15. № 4. С. 30–38. [Kurkin VA, Tsibina AS. New approaches for the standardization of the Monarda fistulosa herb. Fine Chemical Technologies. 2020;15(4):30–38. (In Russ.)] <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2020-15-4-30-38>
54. Тринеева О. В., Сливкин А. И., Сафонова Е. Ф. Определение гидроксикоричных кислот, каротиноидов и хлорофилла в листьях крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.). Химия растительного сырья. 2015. № 3. С. 105–110. [Trineeva OV, Slivkin AI, Safonova EF. Determination of hydroxycinnamic acids, carotenoids and chlorophyll in the leaves of Stinging nettle (*Urtica dioica* L.). Chemistry of plant raw materials. 2015;(3):105–110. (In Russ.)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.201503522>
55. Куркин В. А., Азнагулова А. В. Фитохимическое исследование надземной части одуванчика лекарственного. Химия растительного сырья. 2017. № 1. С. 99–105. [Kurkin VA, Aznagulova AV. Phytochemical study of aerial parts of *Taraxacum officinale* Wigg. Chemistry of plant raw materials. 2017;(1):99–105. (In Russ.)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017011027>
56. Лукашов Р. И., Гурина Н. С. Факторы повышения экстракции гидроксикоричных кислот из одуванчика лекарственного корней. Аспирантский вестник Поволжья. 2024. Т. 24. № 2. С. 86–92. [Lukashou RI, Gurina NS. Factors increasing the hydroxycinnamic acids extraction from dandelion roots. Aspirantskiy vestnik Povolzhiya. 2024;24(2):86–92. (In Russ.)] <https://doi.org/10.35693/AVP636701>
57. Bleoancă I, Bahrim GE. Overview on brewing yeast stress factors. Romanian Biotechnological Letters. 2013; 18(5):8559–8572.
58. Guan N, Li J, Shin H-D, Du G, Chen J, *et al.* Microbial response to environmental stresses: From fundamental mechanisms to practical applications. Applied Microbiology and Biotechnology. 2017;101(10):3991–4008. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8264-y>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2596>
<https://elibrary.ru/ZVWSDN>

Обзорная статья
<https://fptt.ru>

Современные биотехнологические решения в области использования молочнокислых бактерий для молочной промышленности: от селекции штаммов до пробиотических продуктов



С. А. Кишилова^{ID}, В. А. Леонова^{ID}, В. А. Митрова, И. В. Рожкова*^{ID}

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности^{ROR}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 07.04.2025

Принята после рецензирования: 25.07.2025

Принята к публикации: 05.08.2025

*И. В. Рожкова: rozhkova@vniimi.org,

<https://orcid.org/0000-0003-4441-4515>

С. А. Кишилова: <https://orcid.org/0009-0000-9498-4757>

В. А. Леонова: <https://orcid.org/0000-0003-2691-8859>

© С. А. Кишилова, В. А. Леонова, В. А. Митрова,
И. В. Рожкова, 2025



Аннотация.

Старейшей биотехнологической практикой можно считать ферментацию пищевого сырья с участием молочнокислых бактерий. Развитие молочной промышленности требует решения задач в области разработок заквасочных культур для получения продукции с определенными характеристиками и стабильными показателями качества. Целью обзора являлась систематизация литературных сведений по современным биотехнологическим решениям в области формирования баз данных и прогнозирования свойств молочнокислых микроорганизмов, выделения и подбора культур с производственно-ценными свойствами. Обзорное исследование включало критерии отбора, методы поиска литературных источников, критерии включения и исключения материалов, обобщение полученных материалов и их представление. Источники для обзора подбирались по базам данных Scopus, Google Scholar, eLIBRARY.RU. Временные рамки анализируемых источников – с 1999 по 2024 гг. При подборе литературы использовались поисковые запросы по ключевым словам на русском и английском языках. Ценность штаммов определяется способностью сохранять биохимическую активность, высокой скоростью ферментации, устойчивостью к солям и кислотам, способностью синтезировать широкий спектр биологически активных соединений. На основе новых штаммов молочнокислых бактерий во всем мире идет создание активных производственно-ценных консорциумов для молочной промышленности и разработки продуктов с пробиотическими свойствами. Современные принципы оценки биосовместимости при создании поликомпонентных микробных консорциумов включают подтверждение видовой подлинности отобранных производственных штаммов, их синергизма внутри ассоциации, безопасности взаимодействия с индигенной микрофлорой человека, сохранности при добавлении пребиотиков, микроэлементов, витаминов и антиоксидантов. Развиваются генно-инженерные методы, основанные на направленной модификации путей метаболизма организма-продуцента. Их высокая эффективность, по сравнению с традиционными способами, приводит к снижению стоимости продукта. В целях обеспечения продовольственной безопасности и технологического суверенитета, а также поддержания здорового генофонда нации, необходимо развивать российское производство заквасочных культур для молочной промышленности, включая пробиотические, обеспечивающих стабильное качество и заданные характеристики продукции.

Ключевые слова. Молочная промышленность, биотехнологические решения, ферментация, молочнокислые микроорганизмы, закваска, пробиотические культуры, производственно-ценные свойства

Для цитирования: Кишилова С. А., Леонова В. А., Митрова В. А., Рожкова И. В. Современные биотехнологические решения в области использования молочнокислых бактерий для молочной промышленности: от селекции штаммов до пробиотических продуктов. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 624–633. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2596>

Advanced Biotechnological Solutions for Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry: From Strain Selection to Probiotic Products



Svetlana A. Kishilova^{ID}, Victoria A. Leonova^{ID},
Vera A. Mitrova, Irina V. Rozhkova*^{ID}

All-Russian Dairy Research Institute^{ROR}, Moscow, Russia

Received: 07.04.2025
Revised: 25.07.2025
Accepted: 05.08.2025

*Irina V. Rozhkova: rozhkova@vniimi.org,
<https://orcid.org/0000-0003-4441-4515>
Svetlana A. Kishilova: <https://orcid.org/0009-0000-9498-4757>
Victoria A. Leonova: <https://orcid.org/0000-0003-2691-8859>

© S.A. Kishilova, V.A. Leonova, V.A. Mitrova, I.V. Rozhkova, 2025



Abstract.

Lactic fermentation is one of the oldest biotechnologies. The modern dairy industry requires new starter cultures to obtain products with target properties and qualities. This review systematizes scientific publications on advanced biotechnological solutions in the field of database formation and prediction of the properties of lactic acid microorganisms, as well as on the isolation and selection of cultures with optimal industrial qualities.

The review included publications in Russian and English registered in Scopus, Google Scholar, and eLIBRARY.RU in 1999–2024. The industrial value of strains depends on their biochemical activity, fermentation rate, resistance to salts and acids, and the range of biologically active compounds they are able to synthesize. Novel lactic acid strains create active industrial consortia for functional products with probiotic properties. The modern principles of biocompatibility assessment for multicomponent microbial consortia include species authenticity, inter-consortium synergism, safety for human microflora, and combinability with prebiotics, microelements, vitamins, and antioxidants. Genetic engineering is another advanced option: it provides targeted modification of the metabolic pathways of the producer. It is more efficient than conventional methods and decreases the cost of the product. Domestic industrial production of probiotic starter cultures ensures food security and technological independence, as well as improves the national health.

Keywords. Dairy industry, biotechnological solutions, fermentation, lactic acid microorganisms, starter, probiotic cultures, industrial properties

For citation: Kishilova SA, Leonova VA, Mitrova VA, Rozhkova IV. Advanced Biotechnological Solutions for Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry: From Strain Selection to Probiotic Products. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3): 624–633. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2596>

Введение

Молочная промышленность – одна из важнейших отраслей пищевой промышленности. Ее развитие требует решения актуальных задач в области разработок заквасочных культур для получения продукции с определенными биохимическими и органолептическими характеристиками, а также со стабильными показателями качества. Сохранение и пополнение фондов российских коллекций микроорганизмов с ценными производственными свойствами и высоким потенциалом для изготовления заквасок и микробных препаратов является важным фактором технологического суверенитета страны [1, 2]. Требования к промышленно значимым микроорганизмам и их консорциумам обусловлены как особенностями технологического процесса, так и их назначением. Они способны синтезировать органические кислоты, экзополисахариды, соединения,

придающие продуктам специфический или традиционный вкус и аромат, а также бактериоцины. Кроме того, учитывается характер образуемого сгустка, консистенция продукта, постокислительная активность при разных температурах, резистентность к бактериофагам. Целесообразно расширение спектра микроорганизмов для их включения в состав заквасок, в том числе штаммов-антагонистов в качестве культур, защищающих кисломолочные продукты и сыры от развития нежелательной микрофлоры. Их добавление к основной закваске не влияет на вкусовые характеристики продукта и позволяет продлить его срок годности, что экономически выгодно [3, 4]. Ценность штаммов определяется рядом факторов: способность длительно сохранять биохимическую активность, зависящую не только от условий культивирования, но и от соотношения между биохимически активными и неактивными

клетками в популяции; высокая скорость ферментации; устойчивость к солям и кислотам; синтез широкого спектра биологически активных соединений [5–7].

Использование методов генной инженерии для создания новых штаммов молочнокислых бактерий с ценными свойствами является перспективным и многообещающим направлением. Однако требования, согласно которым все применяемые для создания новых штаммов генетические элементы должны быть получены из культур, относящихся к видам, традиционно задействованным в производстве молочных продуктов, вносят ограничения в эти исследования. Кроме того, существует проблема сохранности свойств генетически модифицированных микроорганизмов в сложных пищевых системах во время крупномасштабного производства и хранения.

Целью обзора являлась систематизация литературных сведений по современным биотехнологическим решениям в области формирования баз данных и прогнозирования свойств молочнокислых микроорганизмов, выделения и подбора культур с производственными свойствами.

Объекты и методы исследования

В данном обзоре объектами послужили исследовательские и обзорные статьи, подходящие под критерии отбора. Основным условием для включения публикации в работу являлось наличие информации о биотехнологических решениях в области принципов подбора культур для производства молочных продуктов, разработки заквасок, формирования баз данных и прогнозирования свойств молочнокислых микроорганизмов.

В исследовании рассматривались обзорные и экспериментальные статьи на русском и английском языках. Временные рамки анализируемых источников – с 1999 по 2024 гг. Дополнительным критерием отбора являлось наличие доступа к полному тексту статьи. В случае отсутствия бесплатного доступа к полному тексту, статья исключалась на этапе идентификации.

Поиск источников осуществлялся в базах данных Scopus, Google Scholar, eLIBRARY.RU. Для подбора литературы использовались поисковые запросы по ключевым словам и словосочетаниям на русском и английском языках: молочная промышленность, биотехнологические решения, молочнокислые микроорганизмы, производственно-ценные свойства; dairy industry, biotechnological solutions, lactic acid microorganisms, production-valuable properties. Из отобранных работ извлечена следующая информация: имена авторов, страна, цель и дизайн исследования, выводы, год публикации, название печатного издания. В работах проанализированы названия, аннотации и контент. Суммарно в базах данных найдено 70 подходящих статей. На этапе отбора по названию и аннотации исключено 3 источника как не соответствующие контексту. При анализе полного текста исключено 9 источников.

В результате в обзор вошло 58 работ: 26 за период 2019–2024 г., 15 за 2013–2018 г., 17 за 1999–2013 г.

Результаты и их обсуждение

Принципы подбора культур для производства продуктов питания. Правильный выбор штаммов со стабильными производственно-ценными свойствами – важный фактор, который необходимо учитывать при применении молочнокислых бактерий (МКБ) в пищевых продуктах и напитках, отличающихся большим разнообразием [8]. На их рост и метаболическую активность существенное влияние оказывает состав закваски, pH, технологические условия на производстве [9].

Главная особенность МКБ – способность ферментировать углеводы в молочную кислоту, что имеет определяющее значение для сохранения, безопасности и вкусовых качеств сброженных продуктов. Вместе с тем, метаболические возможности МКБ выходят далеко за рамки производства молочной кислоты. Они образуют широкий спектр метаболитов, которые способствуют сохранению продуктов питания, улучшают вкусовые характеристики и оказывают положительное влияние на здоровье человека. Это делает МКБ весьма значимыми в пищевой промышленности [10–12]. Они, помимо прочего, способны проявлять антагонизм к нежелательным, в том числе патогенным, микроорганизмам [13]. Хотя намеренное использование молочнокислых бактерий, продуцирующих бактериоцины, для повышения микробиологической безопасности пищевых продуктов пока не получило широкого распространения, на рынке уже представлено несколько «защитных» культур. Их функция заключается в подавлении нежелательной и патогенной микрофлоры, например *Listeria monocytogenes* и *Staphylococcus aureus* в йогурте [14]. Особенности метаболитного взаимодействия видов МКБ в закваске определяют стабильность их сосуществования. Оно является устойчивым, если при одном лимитирующем субстрате чувствительность микроорганизмов к собственным продуктам жизнедеятельности выше, чем к метаболитам конкурирующих видов. На поведение микроорганизмов в сообществе влияют продукты обмена веществ этих же бактерий, действующие как ингибиторы, несмотря на достаточное количество субстрата [15]. Свойства продукта зависят от микроорганизма, осуществляющего брожение, и от характера и интенсивности протекающих ферментативных реакций. В России в различных регионах на протяжении многих лет используются природные закваски, представляющие собой смесь молочнокислых бактерий и дрожжей. Изучение характеристик этих заквасок и особенностей взаимодействия микроорганизмов в их составе может быть полезно для разработки продуктов, адаптированных к потребностям населения конкретных регионов страны [16–18].

Методы выделения и идентификации МКБ. Традиционные методы выделения МКБ включают отбор

образцов, посев на специальные питательные среды, получение и идентификация чистых культур. Далее исследуются биологические свойства и производственная эффективность полученных культур. Для идентификации применяют классические микробиологические и биохимические методы, а также методы молекулярной биологии, особенно эффективные при идентификации фенотипически трудноразличимых организмов [19]. Разрабатываются ускоренные методики для достоверного дифференцирования микроорганизмов, в том числе близкородственных видов – например метод мультислокусного секвенирования. При помощи данного метода разработан способ дифференциации бактерий *Lactobacillus helveticus* и *L. acidophilus*. Проведенное мультислокусное секвенирование (MLST) и сравнительный геномный анализ позволили разделить три близких вида стрептококков *Streptococcus thermophilus*, *S. vestibularis* и *S. salivarius*, а также предположить, что *S. thermophilus*, вероятно, эволюционировал от *S. vestibularis* [20]. Полученные результаты могут способствовать созданию ускоренных подходов к идентификации новых культур и определения видового состава ферментированных продуктов и заквасок [21, 22].

Метаболическое разнообразие МКБ подтверждается способностью к росту на разных субстратах – растениях, овощах, фруктах, в кисломолочных самоквасных продуктах, в различных нишах млекопитающих. Бактерии, относящиеся к родам *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* и особенно *Lactococcus*, тесно связаны с производством пищевых продуктов и представляют большую практическую ценность [23]. Многолетние интенсивные исследования МКБ позволили накопить обширные знания об их метаболизме и генетике. Технологические разработки с участием МКБ касаются не только создания заквасочных культур с заданными свойствами, но и ряда других направлений – химии, медицины, сельского хозяйства. Они используются в виноделии, хлебопекарной промышленности, для приготовления кофе, какао и силоса. Развитие генно-инженерных методов позволило изменять метаболические процессы в МКБ для получения продуцентов ценных биохимических веществ [24].

Консорциумы МКБ. МКБ играли важную роль в рационе человека с древнейших времен. Ферментацию пищевого сырья с их участием можно считать старейшей биотехнологической практикой.

Изначально ферментированные продукты питания получали путем простого переноса части сквашенного продукта в новый. В современных условиях этот архаичный способ остается востребованным только в домашней практике. Одним из важных шагов для обеспечения безопасности и стабилизации ферментированной продукции в крупномасштабном производстве является использование заквасок, что стандартизирует процесс и качество конечного продукта [25]. Заквасочные культуры тщательно отбираются для их надежной

адаптации к пищевой среде. Кроме своей основной задачи (ферментации), они повышают полезные для здоровья свойства продуктов питания [26]. В контексте сохранения качества, особенно свежих продуктов, фруктовых и овощных напитков, имеющих динамичный микробиом, выбор заквасочных культур приобретает первостепенное значение. Метаболиты МКБ значительно изменяют органолептические и питательные свойства продуктов и продлевают срок их хранения; бактериоцины и антимикробные пептиды снижают риск порчи и возможного возникновения пищевых инфекций [12]. Устойчивость сосуществования нескольких видов МКБ молока и заквасок во многом определяется их метаболитами. Выработка аутоингибиторов играет важную роль в определении поведения микроорганизмов в микробном сообществе ферментированного молока [27]. Изучение микробных метаболитов, выделяемых смешанными ассоциациями микроорганизмов, поможет улучшить контроль над использованием микроорганизмов для создания стартовых культур и производства разнообразных соединений, применяемых в лечебно-профилактических целях и для разработки функционального питания, ориентированного на различные группы населения.

Большое внимание уделяется конструированию микробных консорциумов. Это ассоциации двух или более микроорганизмов, со схожими биохимическими и технологическими свойствами и отсутствием антагонизма между микроорганизмами-участниками. Оптимально подобранные консорциумы позволяют обеспечить желаемые пробиотические, органолептические, физико-химические и технологические свойства. Микробные консорциумы способны развиваться на сложных субстратах и более устойчивы к неблагоприятным факторам. Современные принципы оценки биосовместимости при создании поликомпонентных микробных консорциумов включают подтверждение видовой подлинности отобранных производственных штаммов, синергизма внутри ассоциации, безопасности взаимодействия с индигенной микрофлорой человека, а также сохранности при добавлении пребиотиков, микроэлементов, витаминов и антиоксидантов [28].

От особенностей микроорганизмов, входящих в состав консорциумов, существенно зависят их свойства. В процессе сокультивирования представителей разных групп могут происходить изменения в биохимической активности микроорганизмов. В частности, при совместном культивировании *Bifidobacterium longum* и *B. breve* изменяется экспрессия белков углеводного метаболизма, синтез клеточной стенки и транспорт питательных веществ. Метаболиты *Enterococcus faecium* стимулируют рост и антагонистическую активность штаммов *B. longum* и *L. plantarum* [29].

Разработка и оптимизация заквасок. Актуально изучение новых штаммов МКБ и микробных консорциумов с заданными свойствами и технологическими характеристиками для оптимизации производства

заквасок и пищевых ингредиентов [22]. Если традиционный подход к составлению заквасок основывался на оптимальной температуре их роста, то в современных условиях доступны концентрированные лиофилизированные или замороженные наборы для прямого внесения. Это позволяет производителям кисломолочных продуктов смешивать разные штаммы бактерий – добавлять пробиотические микроорганизмы в йогурт и другие молочные продукты, к закваскам для сметаны *S. thermophilus* для повышения вязкости продукта и др. Перспективным направлением является борьба с нежелательными и патогенными микроорганизмами в кисломолочных продуктах с помощью заквасок, естественно ингибирующих рост за счет выработки бактериоцинов [30].

Учитывая высокую востребованность сыров, создание новых заквасок для сыродельной отрасли представляет собой значительный потенциал в биотехнологии. Обогащение продукта метаболитами, вырабатываемыми микроорганизмами закваски, не только улучшает вкусовые характеристики традиционных сыров, но и повышает их биологическую ценность. В качестве примера можно привести поливидовую закваску «Бетабаланс 1», применяемую в Белоруссии, в состав которой включены штаммы *L. delbrueckii* subsp. *lactis* и *L. casei* subsp. *casei*. Она усиливает аромат сыра и ингибирует рост маслянокислых бактерий и дрожжей [2]. На основе природных штаммов МКБ вида *L. delbrueckii* subsp. *lactis* разработана технология производства новых заквасок для сыров и созданы концентрированные закваски со сбалансированным уровнем протеолитической активности [31]. В рамках российско-белорусского проекта «Проксибиотик» изучены 16 штаммов МКБ, выделенных в Белоруссии, с подтвержденными пробиотическими свойствами и эффективностью для коррекции микрофлоры ЖКТ в составе кисломолочных продуктов. Биотехнологические опыты проводились, в том числе, на борту Международной космической станции. Благодаря активным научным разработкам, масштабы использования биотехнологий для массового производства молочной продукции с новыми свойствами имеют значительный потенциал для расширения в РФ.

Современные подходы к получению штаммов с производственно-ценными свойствами. В разработке инновационных продуктов лидируют ученые США, Японии и ряда европейских стран. Их исследования основываются на биотехнологических подходах к производству пробиотиков, пребиотиков, новых штаммов МКБ и их консорциумов с оптимальными биологическими и технологическими характеристиками [22].

Применение направленной модификации путей метаболизма организма-продуцента методами метаболической инженерии для получения биологически активных соединений интенсифицируют производство и дают положительный экономический эффект. Биоинженерные методы, по сравнению с традицион-

ными (случайным мутагенезом и др.), более эффективны. Это снижает стоимость продукта, обеспечивая повышение объемов продаж.

Технологии omic внесли значительный вклад в понимание микробиологических процессов. Вычислительные инструменты позволяют исследователям выявлять закономерности, делать прогнозы, применять результаты в практических контекстах. Геномика характеризует потенциальные возможности организма, транскриптомика количественно измеряет динамическую экспрессию молекул РНК. Определение в исследуемом материале количественного и качественного профиля всех синтезированных РНК позволяет выяснить, какие именно гены транскрибируются для последующего синтеза соответствующих белков. Протеомика (изучение белковых систем) дает характеристику количества и особенностей всех белковых продуктов на уровне клеток. Для оценки протеома белки идентифицируют путем анализа фрагментов, получаемых при воздействии протеолитических ферментов и в дальнейшем разделяемых методом микрокапиллярной жидкостной хроматографии. Новым количественным методом протеомики является масс-спектрометрический анализ пептидов. Omic-технологии позволяют исследовать геном, транскриптом и протеом всех симбиотических микроорганизмов, включая некультивируемые формы, без необходимости выделения чистых культур. Различные omic-подходы также используются для оценки функциональных эффектов пробиотических микроорганизмов [32, 33]. Генетически модифицированный *Lactococcus lactis* был первым организмом, примененным для лечения болезни Крона (хронического воспаления кишечника) [34]. Штаммы лактококков, продуцирующие белки и пептиды с лечебными свойствами, представляют значительный интерес для развития клинической практики.

Анализ транскриптома клеток *L. plantarum*, адаптированных к 8 % этанолу, выявил сверхэкспрессию генов, участвующих в метаболизме цитрата и архитектуре клеточной оболочки, что может помочь понять механизмы устойчивости к этанолу [35].

Сначала метаболическая инженерия в области МКБ была направлена на получение вкусовых соединений – аланина, диацетила и ацетальдегида. Применение аланиндегидрогеназы из *Bacillus subtilis* для биосинтеза аланина лактококками – достаточно успешно [36].

Предполагается, что данная методика применительно к *S. thermophilus*, используемых для производства йогурта, может способствовать получению сладких и полезных ферментированных продуктов. Диацетил, придающий приятный аромат молочным продуктам, является побочным продуктом и образуется в результате окислительного декарбоксилирования α -ацетолактата. Его синтез связан с утилизацией цитрата. Разработки метаболической инженерии, направленные на увеличение производства диацетила из лактозы или глюкозы, привели к созданию штам-

мов *L. brevis* с мутациями в пируватдегидрогеназе, способных вырабатывать диацетил из отхода сыроделия – сывороточного пермеата [37].

Несбалансированное питание и дефицит витаминов с негативным влиянием на здоровье, остаются широко распространенной проблемой. Благодаря способности штаммов МКБ синтезировать витамины группы В (B_2 , B_{11} , B_{12}) и их пищевой ценности, перспективен как поиск штаммов-продуцентов, так и их конструирование методами геной инженерии [38]. Эффективность МКБ в технологических процессах или в ЖКТ зависит от возможности справляться с неблагоприятными факторами, среди которых наиболее важен кислотный стресс. В работе D. I. Serrazanetti *et al.* представлены исследования механизмов устойчивости бактерий к кислотному стрессу [39]. В результате обнаружены гены, необходимые для выживания и адаптации МКБ к неблагоприятным условиям pH. Для создания популяций лактобацилл с разной кислотоустойчивостью, клетки выращивали либо при низком pH, либо в присутствии мутагенного соединения (NTG-нитрозогуанидина). Характерной особенностью полученных штаммов *L. plantarum* стало сочетание способности к росту при pH 4,0 с трехкратным увеличением производства молочной кислоты относительно штамма дикого типа [40].

Утилизация различных сахаров МКБ нашла применение в сельском хозяйстве, особенно при силосовании растительных кормов. Штаммы *L. paracasei* и *L. rhamnosus*, отобранные для использования в качестве биоконсервантов, ферментируют не только гексозы, но и пентозы, такие как D-рибоза, D-ксилоза и D-лихсоза [41]. Весьма перспективным направлением представляется разработка заквасочных культур МКБ с повышенной способностью усваивать лактозу. Существующие МКБ метаболизируют только около 25 % лактозы, что делает кисломолочные продукты неприемлемыми для людей с лактозной непереносимостью, которая встречается почти у 90 % населения стран Азии и Африки в зрелом возрасте.

Базы данных. Определение метаболических возможностей МКБ, позволяющие им обитать в разных средах, имеет ключевое значение для понимания их адаптации и эволюции. Проведено много исследований с использованием баз данных для идентификации генов и белков, связанных с метаболической активностью, а также для построения метаболических путей. UniProt – база данных, содержащая огромную коллекцию последовательностей белков [42, 43]. TIGRFAM – еще один инструмент, который аннотирует семейства белков, разработанный для дополнения Pfam [43]. TIGRFAM обычно избегает построения модели, которая аналогична Pfam, но создает модель для доменов и повторов нового региона. SignalP, в свою очередь, специфичен для идентификации сигнальных пептидов, направляющих белки для транслокации через внутреннюю плазматическую мембрану прокариот [44]. Эти инструменты широко используются для иденти-

фикации белков и функционального описания штаммов. База данных ферментов (CAZy), активных в углеводах, представляет собой специализированный ресурс для ферментов, участвующих в синтезе и расщеплении сложных углеводов и гликоконъюгатов [45]. Геномы могут быть аннотированы с помощью CAZyDB, однако автоматизированная система отсутствует, и исследователям необходимо связываться с командой разработчиков CAZy для описания интересующих геномов. Это ограничение устраняется с помощью dbCAN – веб-сервера, основанного на схеме классификации CAZyDB, обеспечивающего автоматизированную аннотацию геномов для CAZy [43]. CAZyDB и dbCAN часто применяются для идентификации ферментов, участвующих в углеводном метаболизме МКБ [46]. Киотская энциклопедия генов и геномов (KEGG), используемая для построения метаболических путей, с момента своего создания в 1999 г. была модернизирована и теперь представляет собой всеобъемлющую интегрированную базу данных, содержащую различные ресурсы, которые служат четырем основным целям: представление системной, геномной, химической информации и информации о здоровье [47–49]. Каждая категория состоит из различных баз данных, которые собирают и предоставляют необходимые данные и информацию в соответствии с поставленной целью.

Среди способов отбора производственно-ценных микроорганизмов наиболее направленным процессом является генетическая селекция. Этот метод дает возможность объединять признаки родительских бактерий в клетках одного штамма и получать варианты, не существующие в природе. Работы по конструированию штаммов МКБ проводятся рядом зарубежных лабораторий, но полученные результаты являются их интеллектуальной собственностью и недоступны для других участников рынка [50]. Кроме того, протоколы технологических процессов и требования к характеристикам конечного продукта отличаются в разных странах. В связи с этим, создание универсальных бактериальных заквасок не представляется возможным.

У бактерий обмен генетической информацией может происходить путем конъюгации, трансдукции, трансформации и слияния протопластов. Последнее позволяет объединять геномы и цитоплазмы клеток, относящихся к разным видам и родам микроорганизмов. Совмещение геномов, и, следовательно, признаков двух и более клеток в одной, способствует уменьшению количества штаммов микроорганизмов в закваске, не изменяя при этом качество продукта. Данный метод получения заквасочных штаммов с улучшенными свойствами позволит упростить производственные процессы и снизить затраты на производство [51].

В промышленности штаммы микроорганизмов, полученные генно-инженерными методами, используются для получения различных целевых продуктов: ферментов, антибиотиков, вакцин и др. После получения данного продукта культура-продуцент подлежит

уничтожению, что минимизирует риски, связанные с биобезопасностью. В пищевой отрасли применение генетически модифицированных организмов (ГМО) вызывает опасения, связанные с возможными непредсказуемыми последствиями их воздействия на организм человека и окружающую среду. Деятельность, связанная с генетически модифицированными заквасками, должна регулироваться национальными и международными правилами для защиты потребителя.

Согласно международным требованиям GRAS, все генетические элементы, необходимые для создания рекомбинантных штаммов МКБ, должны быть получены из традиционно используемых при производстве молочных ферментированных продуктов культур. В сложных пищевых системах, в условиях крупномасштабного производства, свойства генетически модифицированных микроорганизмов не всегда стабильно сохраняются. Это побуждает исследователей искать альтернативные генетической селекции пути для улучшения производственно-ценных характеристик МКБ [12].

Штаммы МКБ и пробиотические продукты. Поиск новых штаммов МКБ с целью создания на их основе активных пробиотических препаратов для потребления в составе продуктов питания ведется во всем мире. В медицине, ветеринарии, пищевой и фармацевтической промышленности для коррекции нарушений работы ЖКТ, недопущения заселения кишечника патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, профилактики целого ряда заболеваний все шире применяются препараты-пробиотики и функциональные ферментированные молочные продукты с лечебно-профилактическими свойствами [52–54]. Растущий спрос на такие продукты связан как с общим запросом общества на здоровое питание, так и с желанием пожилых людей продлить активное долголетие в условиях увеличивающейся продолжительности жизни [55]. Скрининг, отбор и оценка новых штаммов МКБ с пробиотическими свойствами требуют комплексного подхода, состоящего из ряда шагов. Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций и Всемирная организация здравоохранения опубликовали «Руководящие принципы по оценке пробиотиков в пищевых продуктах», которые установили стандарты безопасности и эффективности при выборе и оценке пробиотиков [56]. Ключевыми критериями являлись способность противостоять агрессивной среде ЖКТ человека и подтвержденная безопасность [57]. Все микроорганизмы, включая МКБ, перед использованием должны быть тщательно оценены и подтверждены на предмет безопасности [58, 59]. Прежде всего,

предпосылками безопасности для пробиотических штаммов считается отсутствие генов вирулентности и устойчивости к антибиотикам. Правильная классификация и мониторинг метаболических процессов также предотвращает образование нежелательных метаболических побочных продуктов во время производства молочной продукции. Включение пробиотических консорциумов в состав продуктов питания может стать основой для профилактики широкого спектра заболеваний, увеличивая продолжительность полноценной и активной жизни населения и способствуя поддержанию здорового генофонда нации [60, 22].

Выводы

Во всем мире идет активный поиск и отбор новых штаммов молочнокислых бактерий, в том числе с использованием геной инженерии, для создания активных производственно-ценных консорциумов, включая пробиотические продукты, для молочной промышленности. Для обеспечения продовольственной безопасности, технологического суверенитета и поддержания здорового генофонда нации необходимо развивать российские заквасочные культуры, обеспечивающие продукцию со стабильным качеством и заданными биохимическими и органолептическими характеристиками.

Критерии авторства

С. А. Кишилова – концептуализация, проведение исследования, написание черновика рукописи. В. А. Леонова – проведение исследования, написание черновика рукописи. В. А. Митрова – проведение исследования. И. В. Рожкова – концептуализация, формальный анализ, написание рукописи – рецензирование и редактирование.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

S.A. Kishilova developed the research concept, conducted the research, and drafted the manuscript. V.A. Leonova conducted the research and drafted the manuscript. V.A. Mitrova performed the research. I.V. Rozhkova developed the research concept, provided the formal analysis, and proofread the manuscript.

Conflict of interest

The authors state that there is no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Зобкова З. С. Продовольственная безопасность России: один из главных путей - самообеспеченность цельно-молочными продуктами. Молочная промышленность. 2012. № 5. С. 40–44. [Zobkova ZS. Food safety of Russia: One of the principle ways is provision with fresh milk products. Dairy Industry. 2012;(5):40–44. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/OWUJUT>

2. Жабанос Н., Фурик Н., Бирюк Е., Савельева Т. Прикладная биотехнология: от фундаментальных исследований к промышленным технологиям. Наука и инновации. 2024. № 10. С. 12–18. [Zhabanos N, Furik N, Biryuk E, Savelyeva N. Applied biotechnology: From fundamental research to industrial technologies. The Science and Innovations. 2024;(10):12–18. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/UUYECR>
3. Коровацкая Е. М., Фурик Н. Н., Жабанос Н. К., Василенко С. Л. Исследование влияния культур-антагонистов на технически-вредные микроорганизмы в процессе сквашивания и последующего хранения сливок. Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья. 2021. № 16. 46–54. [Korovatskaya E, Furik N, Zhabanos N, Vasylenko S. Study of the influence of antagonist cultures on technically harmful microorganisms in the process of creaming and subsequent storage of cream. Topical Issues of Processing of Meat and Milk Raw Materials. 2021;(16):46–54. (In Russ.)]
4. Юрова Е. А. Контроль качества и безопасности продуктов функциональной направленности на молочной основе. Молочная промышленность. 2020. № 6. С. 12–15. [Yurova EA. Quality control and safety of milk-based functional products. Dairy Industry. 2020;(6):12–15. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-06-12-15>
5. Nikitina E, Petrova T, Vafina A, Ezhkova A, Yahia MN, *et al.* Textural and functional properties of skimmed and whole milk fermented by novel *Lactiplantibacillus plantarum* AG10 strain isolated from silage. Fermentation. 2022;8(6):290. <https://doi.org/10.3390/fermentation8060290>
6. Стоянова Л. Г., Дбар С. Д., Полянская И. С. Метабиотические свойства штаммов *Lactobacillus acidophilus*, входящих в комплексные закваски для производства пробиотических молочных продуктов. Биотехнология. 2022. Т. 38. № 1. С. 3–12. [Stoyanova LG, Dbara SD, Polyanskaya IS. Metabiotic properties of *Lactobacillus acidophilus* strains included in complex starter cultures for probiotic dairy products. Biotechnology. 2022;38(1):3–12. (In Russ.)] <https://doi.org/10.56304/S0234275822010070>
7. Rajoka MSR, Wu Y, Mehwish HM, Bansal M, Zhao L. *Lactobacillus* exopolysaccharides: New perspectives on engineering strategies, physiochemical functions, and immunomodulatory effects on host health. Trends in Food Science & Technology. 2020;103:36–48. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.003>
8. Sakoui S, Derdak R, Addoum B, *et al.* The first study of probiotic properties and biological activities of lactic acid bacteria isolated from Bat guano from Er-rachidia, Morocco. LWT. 2022;159:113224. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113224>
9. Зобкова З. С. Зависимость относительной биологической ценности кисломолочных напитков от вида заквасочных микроорганизмов. Молочная промышленность. 2020. № 8. С. 36–37. [Zobkova ZS. Dependence of the relative biological value of fermented milk drinks on the type of starter microorganisms. Dairy Industry. 2020;(8):36–37. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/XZVCXA>
10. Tang H, Huang W, Yao YF. The metabolites of lactic acid bacteria: Classification, biosynthesis and modulation of gut microbiota. Microbial Cell. 2023;10(3):49–62. <https://doi.org/10.15698/mic2023.03.792>
11. Lee SJ, Jeon HS, Yoo JY, Kim JH. Some important metabolites produced by lactic acid bacteria originated from kimchi. Foods. 2021;10(9):2148. <https://doi.org/10.3390/foods10092148>
12. Anumudu CK, Miri T, Onyeaka H. Multifunctional applications of lactic acid bacteria: Enhancing safety, quality, and nutritional value in foods and fermented beverages. Foods. 2024;13(23):3714. <https://doi.org/10.3390/foods13233714>
13. Servin AL. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. FEMS microbiology reviews. 2004;28(4):405–440. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.01.003>
14. Benkerroum N, Oubel H, Mimoun BL. Behavior of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in yogurt fermented with a bacteriocin-producing thermophilic starter. Journal of Food Protection. 2002;65(5):799–805. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-65.5.799>
15. Сидоренко О. Д., Жукова Е. В., Пастух О. Н. Особенности взаимодействия микроорганизмов в ферментированном молоке. Все о мясе. 2020. № 5S. С. 329–332. [Sidorenko OD, Zhukova EV, Pastukh ON. Features of interaction microorganisms in fermented milk. Vsyо о Myase. 2020;(5S):329–332. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2020-5S-329-332>
16. Зобкова З. С., Зенина Д. В., Фурсова Т. П., Гаврилина А. Д., Шелагинова И. Р. Разработка технологий молочных продуктов здорового питания: современные методологии. Молочная промышленность. 2015. № 8. С. 38–39. [Zobkova ZS, Zenina DV, Fursova TP, Gavrilina AD, Shelaginova IR. Development of the healthy milk products technologies: Up-to-date methodologies. Dairy Industry. 2015;(8):38–39. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/UBRQLT>
17. Сидоренко О. Д., Жукова Е. В., Пастух О. Н. Биологическая активность лактобактерий природных заквасок. Успехи современной науки. 2017. Т. 2. № 10. С. 34–37. [Sidorenko OD, Zhukova EV, Pastukh ON. Biological activity of lactobacilli in natural starter cultures. Modern Science Success. 2017;2(10):34–37. (In Russ.)]
18. Сидоренко О. Д., Жукова Е. В., Пастух О. Н. Лактобактерии природных заквасок молока. Международная научная конференция, посвященной 130-летию Н. И. Вавилова. М., 2018. С. 122–124. [Sidorenko OD, Zhukova EV, Pastukh ON. Lactobacilli of natural milk starters. International Scientific Conference dedicated to 130 years to Vavilov NI. Moscow, 2018:122–124. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/XMCQYP>
19. Ботина С. Г. Генетическое многообразие штаммов молочнокислых термофильных бактерий на территории стран СНГ. Биотехнология. 2004. № 2. С. 3–12. [Botina SG. Genetic diversity of lactic acid thermophilic bacteria strains in the territory of the CIS countries. Biotechnology. 2004;(2):3–12. (In Russ.)]

20. Yu J, Sun Z, Liu W, Xi X, Song Y, et al. Multilocus sequence typing of *Streptococcus thermophilus* from naturally fermented dairy foods in China and Mongolia. BMC Microbiology. 2015;15:1–13. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0551-0>
21. Шукшина М. А., Бирюк Е. Н., Радиончик М. О. Сиквенс-типирование *Lactobacillus helveticus* и *Lactobacillus acidophilus* на основании 3 генов домашнего хозяйства. Биотехнология. 2023. № 17. С. 107–114. [Shukshyna M, Biruk E, Radzivonchik M. Sequence typing of *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus acidophilus* based on 3 housekeeping genes. Biotechnology. 2023;(17):107–114. (In Russ.)]
22. Просеков А. Ю., Остроумов Л. А. Инновационный менеджмент биотехнологий заквасочных культур. Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 43. № 4. С. 64–69. [Prosekov AYU, Ostroumov LA. Innovation management biotechnology of starter cultures. Food Processing: Techniques and Technology. 2016;43(4):64–69. (In Russ.)]
23. Щетко В. А., Фещенко В. Ю. Выделение молочнокислых бактерий, перспективных для пищевой промышленности, с целью последующей их идентификации. Вестник Полесского государственного университета. Серия природо-ведческих наук. 2015. № 2. С. 42–48. [Shchetko VA, Feshchenko VY. The selection of lactic acid bacteria perspective for the food industry for the subsequent their identification. Bulletin of Polesky State University. Series in Natural Sciences. 2015;(2):42–48. (In Russ.)]
24. Gaspar P, Carvalho AL, Vinga S, et al. From physiology to systems metabolic engineering for the production of biochemicals by lactic acid bacteria. Biotechnology Advances. 2013;31(6):764–788. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.03.011>
25. Icer MA, Özbay S, Ağagündüz D, Kelle B, Bartkiene E, et al. The impacts of acidophilic lactic acid bacteria on food and human health: A review of the current knowledge. Foods. 2023;12(15):2965. <https://doi.org/10.3390/foods12152965>
26. Семенихина В. Ф., Рожкова И. В., Раскошная Т. А. и др. Разработка заквасок для кисломолочных продуктов. Молочная промышленность. 2013. № 11. С. 30–31. [Semenihina VF, Rozhkova IV, Raskoshnaya TA, et al. Development of starter cultures for fermented milk products. Dairy Industry. 2013;(11):30–31. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/RHIUYX>
27. Блинкова Л. П. Бактериоцины: критерии, классификация, свойства, методы выявления. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2003. № 3. С. 109–113. [Blinkova LP. Bacteriocins: Criteria, classification, properties, detection methods. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology. 2003;(3):109–113. (In Russ.)]
28. Бояринева И. В. Научные и практические концепции создания поликомпонентных синбиотических продуктов. Евразийский Союз Ученых. 2019. № 9–1. С. 37–40. [Boiarineva I. Scientific and practical concepts of creation of polycomponent synbiotic products. Eurasian Union of Scientists. 2019;(9–1):37–40. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31618/ESU.2413-9335.2019.1.66.295>
29. Ruiz L, Sánchez B, de los Reyes-Gavilán CG, Gueimonde M, Margolles A. Coculture of *Bifidobacterium longum* and *Bifidobacterium breve* alters their protein expression profiles and enzymatic activities. International Journal of Food Microbiology. 2009;133(1–2):148–153. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.014>
30. Tamime AY. Fermented milks. In: Tamime AY, editors. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2008. 288 p.
31. Двоежёнова Е.А. Биохимическая активность культур молочнокислых бактерий, перспективных для использования при изготовлении сыров с пониженным содержанием жира. Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья. 2022. № 17. С. 129–139. [Dvoezhenova EA, Zhabanos NK, Mukha DV, Furik NN. Biochemical activity of lactic acid bacteria promising for use in the production of reduced-fat cheese. Topical Issues of Processing of Meat and Milk Raw Materials. 2022;(17):129–139. (In Russ.)]
32. Baugher JL, Klaenhammer TR. Invited review: Application of omics tools to understanding probiotic functionality. Journal of Dairy Science. 2011;94(10):4753–4765. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4384>
33. Бондаренко В. М., Рыбальченко О. В. Анализ профилактического и лечебного действия пробиотических препаратов с позиций новых научных технологий. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2015. № 2. С. 90–104. [Bondarenko VM, Rybalchenko OV. Analysis of the preventive and curative effects of probiotic drugs from the perspective of new scientific technologies. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2015;(2):90–104. (In Russ.)]
34. Braat H, Rottiers P, Hommes DW, Huyghebaert N, Remaut E, et al. A phase I trial with transgenic bacteria expressing interleukin-10 in Crohn's disease. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2006;4(6):754–759. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2006.03.028>
35. Liu S, Leathers TD, Copeland A, Chertkov O, Goodwin L, et al. Complete genome sequence of *Lactobacillus buchneri* NRRL B-30929, a novel strain from a commercial ethanol plant. Journal of Bacteriology. 2011;193(5):4019–4020. <https://doi.org/10.1128/jb.05180-11>
36. Ye L, Zhao H, Li Z, Wu JC. Improved acid tolerance of *Lactobacillus pentosus* by error-prone whole genome amplification. Bioresource Technology. 2013;135:459–463. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.042>
37. Nadal I, Rico J, Pérez-Martínez G, Yebra MJ, Monedero V. Diacetyl and acetoin production from whey permeate using engineered *Lactobacillus casei*. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2009;36(9):1233–1237. <https://doi.org/10.1007/s10295-009-0617-9>
38. LeBlanc JG, Milani C, Savoy de Giori G, Sesma F, et al. Bacteria as vitamin suppliers to their host: A gut microbiota perspective. Current Opinion in Biotechnology. 2013;24(2):160–168. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.08.005>
39. Serrazanetti DI, Guerzoni ME, Corsetti A, Vogel R, et al. Metabolic impact and potential exploitation of the stress reactions in lactobacilli. Food Microbiology. 2009;26(7):700–711. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.007>

40. Zhang J, Wu C, Du G, Chen J. Enhanced acid tolerance in *Lactobacillus casei* by adaptive evolution and compared stress response during acid stress. *Biotechnology and Bioengineering*. 2012;17:283–289. <https://doi.org/10.1007/s12257-011-0346-6>
41. Романович Н. С., Бирюк Е. Н., Савельева Т. А., Жабанос Н. К., Фурик Н. Н. Характеристика ферментации углеводов и их производных лактобациллами, выделенными из организма пчел и пчелопродуктов. Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья. 2024. № 17. С. 115–121. [Ramanovich NS, Biruk AN, Savelieva TA, Zhabanos NK, Furik NN. Characteristics of the fermentation of carbohydrates and their derivatives by lactobacilla isolated from bee and bee products. *Topical Issues of Processing of Meat and Milk Raw Materials*. 2022;(17):115–121. (In Russ.)]
42. Mistry J, Chuguransky S, Williams L, Qureshi M, Salazar GA, *et al.* Pfam: The protein families database in 2021. *Nucleic Acids Research*. 2021;49(D1):D412–D419. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa913>
43. Haft DH, Selengut JD, Richter RA, Harkins D, Basu MK, *et al.* TIGRFAMs and genome properties in 2013. *Nucleic Acids Research*. 2013;41(D1):D387–D395. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1234>
44. Almagro Armenteros JJ, Tsirigos KD, Sønderby CK, Petersen TN, *et al.* SignalP 5.0 improves signal peptide predictions using deep neural networks. *Nature Biotechnology*. 2019;37(4):420–423. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0036-z>
45. Cantarel BL, Coutinho PM, Rancurel C, Bernard T, *et al.* The carbohydrate-active EnZymes database (CAZy): An expert resource for glycogenomics. *Nucleic Acids Research*. 2009;37(suppl_1):D233–D238. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn663>
46. Yin Y, Mao X, Yang J, Chen X, Mao F, *et al.* dbCAN: A web resource for automated carbohydrate-active enzyme annotation. *Nucleic Acids Research*. 2012;40(W1):W445–W451. <https://doi.org/10.1093/nar/gks479>
47. Ogata H, Goto S, Sato K, Fujibuchi W, Bono H, *et al.* KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Research*. 1999;27(1):29–34. <https://doi.org/10.1093/nar/27.1.29>
48. Kanehisa M, Furumichi M, Tanabe M, Sato Y, Morishima K, *et al.* KEGG: New perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs. *Nucleic Acids Research*. 2017;45(D1):D353–D361. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1092>
49. Mendoza RM, Kim SH, Vasquez R, Hwang IC, Park YS, *et al.* Bioinformatics and its role in the study of the evolution and probiotic potential of lactic acid bacteria. *Food Science and Biotechnology*. 2023;32(4):389–412. <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01142-8>
50. Чаевская Т. В., Белясова Н. А., Богданова Л. Л., Дудко Н. В., Сафроненко Л. В. Конструирование заквасочных штаммов лактококков с улучшенными свойствами. Пищевая промышленность: наука и технология. 2009. № 1. С. 24–29. [Chaevskaya TV, Belyasova NA, Bogdanova LL, Dudko NV, Safronenko LV. Designing starter cultures of lactococci with improved properties. *Food Industry: Science and Technology*. 2009;(1):24–29. (In Russ.)]
51. Белясова Н. А., Чаевская Т. В., Караева О. А., Гриц Н. В. Разработка метода слияния протопластов и селекция гибридных бактерий у лактококков. Вестник НАН Беларуси. Серия биологических наук. 2002. № 2. С. 84–87. [Belyasova NA, Chaevskaya TV, Karaeva OA, Grits NV. Development of a protoplast fusion method and selection of hybrid bacteria in lactococci. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*. 2002;(2):84–87. (In Russ.)]
52. Рожкова И. В., Раскошная Т. А., Ботина С. Г., Бегунова А. В. Новый пробиотический штамм *Lactobacillus reuteri*. Молочная промышленность. 2015. № 12. С. 38–39. [Rojkova IV, Raskoshnaya TA, Botina SG, Begunova AV. New probiotic strain *Lactobacillus reuteri*. *Dairy Industry*. 2015;(12):38–39. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/SVPPUZ>
53. Рожкова И. В., Бегунова А. В. Пробиотические микроорганизмы как фактор повышения здоровья. Молочная промышленность. 2020. № 7. С. 38–39. [Rozhkova IV, Begunova AV. Probiotic microorganisms as a factor in improving health. *Dairy Industry*. 2020;(7):38–39. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/CSIWXX>
54. Донская Г. А. Антиоксидантные свойства молока и молочных продуктов: обзор. Пищевая промышленность. 2020. № 12. С. 86–91. [Donskaya GA. Antioxidant properties of milk and dairy products: Review. *Food Industry*. 2020;(12):86–91. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/XNCFER>
55. Кручинин А. Г., Агаркова Е. Ю. Биологически активные пептиды молока: обзор. Пищевая промышленность. 2020. № 12. С. 92–96. [Kruchinin AG, Agarkova EYu. Biologically active peptides of milk: A review. *Food Industry*. 2020;(12):92–96.] <https://elibrary.ru/PIIQSA>
56. Araya M, Morelli L, Reid G, Sanders M, Stanton C, *et al.* Guidelines for the evaluation of probiotics in food. World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2002:35–45.
57. Zhang W, Lai S, Zhou Z, Yang J, Liu H, *et al.* Screening and evaluation of lactic acid bacteria with probiotic potential from local Holstein raw milk. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.918774>
58. Coeuret V, Gueguen M, Vernoux JP. In vitro screening of potential probiotic activities of selected lactobacilli isolated from unpasteurized milk products for incorporation into soft cheese. *Journal of Dairy Research*. 2004;71(4):451–460. <https://doi.org/10.1017/S0022029904000469>
59. Fontana C, Coconcelli PS, Vignolo G, Saavedra L. Occurrence of antilisterial structural bacteriocins genes in meat borne lactic acid bacteria. *Food Control*. 2015;47:53–59. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.021>
60. Семенихина В. Ф., Рожкова И. В., Бегунова А. В., Ширшова Т. И., Пospelova В. В. Биотехнология кисломолочных продуктов и препаратов с пробиотическими свойствами. Молочная промышленность. 2016. № 7. С. 57–58. [Semenihina VF, Rojkova IV, Begunova AV, Shyrshova TI, Pospelova VV. *Biotechnology of the fermented milk products and preparations with probiotic properties*. *Dairy Industry*. 2016;(7):57–58. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/WAYUZN>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2598>
<https://elibrary.ru/JNBFZC>

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

Деконтаминация ионов марганца из сточных вод и природных источников



Е. Н. Неверов^{ORCID}, И. В. Тимошук*^{ORCID},
А. К. Горелкина^{ORCID}, Л. А. Иванова^{ORCID}, Е. С. Михайлова^{ORCID},
Т. А. Утробина^{ORCID}, А. Л. Майтаков^{ORCID}

Кемеровский государственный университет^{ORCID}, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 15.06.2025
Принята после рецензирования: 21.07.2025
Принята к публикации: 05.08.2025

*И. В. Тимошук: irina_190978@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-1349-2812>

Е. Н. Неверов: <https://orcid.org/0000-0002-3542-786X>
А. К. Горелкина: <https://orcid.org/0000-0002-3782-2521>
Л. А. Иванова: <https://orcid.org/0000-0002-4103-8780>
Е. С. Михайлова: <https://orcid.org/0000-0002-0673-0747>
Т. А. Утробина: <https://orcid.org/0009-0001-4883-0340>
А. Л. Майтаков: <https://orcid.org/0000-0002-0714-204X>

© Е. Н. Неверов, И. В. Тимошук, А. К. Горелкина, Л. А. Иванова,
Е. С. Михайлова, Т. А. Утробина, А. Л. Майтаков, 2025



Аннотация.

Техногенная нагрузка агропромышленного комплекса и предприятий различных отраслей промышленности приводит к существенному истощению основных биосферных функций. К перспективному направлению элиминации тяжелых металлов относится сорбционный метод. Цель работы – установление закономерностей и механизма процесса адсорбции ионов марганца и выявление наиболее целесообразных рекомендаций для их деконтаминации из поверхностных, подземных и сточных вод.

Объектами исследования являлись традиционный активный уголь на основе углеродистого материала СКД-515, сорбент на основе скорлупы кокоса (кокосовый активный уголь) и сорбционный материал минерального происхождения МС. Для изучения структуры поверхности, рельефа и наличия пор сорбционных материалов использовали рентгеноструктурный анализ, методы электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии и сканирующей электронной микроскопии. Проведено комплексное исследование адсорбции марганца в равновесных, кинетических и динамических условиях.

При адсорбции ионов марганца наблюдалось незначительное изменение структурно-сорбционных параметров. Кокосовый активный уголь и СКД-515 относятся к микропористым материалам, а МС – к мезопористым. Адсорбция марганца в статических условиях позволила расположить сорбционные материалы по поглотительной способности в ряд: МС > кокосовый активный уголь > СКД-515. Посредством кинетических исследований установлено, что лимитирующей стадией процесса адсорбции является внешнедиффузионный массоперенос в течение 20–45 мин. На этапе моделирования работы сорбционной колонны с неподвижным слоем материала в динамических условиях варьировали диаметр колонны, высоту слоя загрузки, скорость потока, исходную концентрацию ионов марганца. Степень очистки в динамических условиях для МС составила 87 %, кокосового активного угля – 45 %, СКД-515 – 37 %.

По результатам комплексного исследования процесса адсорбции марганца в статических, кинетических и динамических условиях для практического применения при очистке сточных вод и водоподготовке может быть рекомендован сорбционный материал МС в связи с низкой стоимостью и высокой эффективностью.

Ключевые слова. Техногенная трансформация, сточные воды, природные водоисточники, адсорбция, активный уголь, сорбционный материал, марганец

Финансирование. Исследование выполнено в рамках комплексной научно-технической программы полного инновационного цикла «Разработка и внедрение комплекса технологий в областях разведки и добычи полезных ископаемых, обеспечения промышленной безопасности, биоремедиации, создания новых продуктов глубокой переработки из угольного сырья при последовательном снижении экологической нагрузки на окружающую среду и рисков для жизни населения», утвержденной Распоряжением Правительства Российской Федерации от 11.05.2022 № 1144-р, при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2022-1201 от 30.09.2022.

Для цитирования: Неверов Е. Н., Тимошук И. В., Горелкина А. К., Иванова Л. А., Михайлова Е. С. и др. Деконтаминация ионов марганца из сточных вод и природных источников. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 634–647. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2598>

Removal of Manganese Ions from Natural and Wastewater



Evgeniy N. Neverov^{ID}, Irina V. Timoshchuk*^{ID},
Alena K. Gorelkina^{ID}, Ludmila A. Ivanova^{ID},
Ekaterina S. Mikhaylova^{ID}, Tamara A. Utrobina^{ID}, Anatoly L. Maytakov^{ID}

Kemerovo State University^{ROR}, Kemerovo, Russia

Received: 15.06.2025
Revised: 21.07.2025
Accepted: 05.08.2025

*Irina V. Timoshchuk: irina_190978@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-1349-2812>

Evgeniy N. Neverov: <https://orcid.org/0000-0002-3542-786X>
Alena K. Gorelkina: <https://orcid.org/0000-0002-3782-2521>
Ludmila A. Ivanova: <https://orcid.org/0000-0002-4103-8780>
Ekaterina S. Mikhaylova: <https://orcid.org/0000-0002-0673-0747>
Tamara A. Utrobina: <https://orcid.org/0009-0001-4883-0340>
Anatoly L. Maytakov: <https://orcid.org/0000-0002-0714-204X>

© E.N. Neverov, I.V. Timoshchuk, A.K. Gorelkina, L.A. Ivanova, E.S. Mikhaylova,
T.A. Utrobina, A.L. Maytakov, 2025



Abstract.

The man-induced impact caused by agriculture and industry depletes the biosphere and its resources. Sorption is an effective means of removing heavy metals from water. This research featured manganese adsorption patterns in surface, underground, and wastewater sources.

The study involved conventional activated carbon SKD-515, a coconut carbon sorbent, and a mineral sorbent of MS brand. The surface structure was studied using the methods of X-ray structural analysis, electrothermal atomic absorption spectrometry, and scanning electron microscopy. Other experiments tested the results of manganese adsorption under different equilibrium, kinetic, and dynamic conditions.

The tests revealed an insignificant change in the structural and sorption parameters. The samples of coconut carbon and SKD-515 were microporous while the MS sample proved to be mesoporous. The static test made it possible to range the sorbents by their absorption capacity as follows: MS > coconut carbon > SKD-515. According to the kinetic test, the limiting stage of the adsorption process started at the external diffusion mass transfer (20–45 min). The modeling stage involved a sorption column with a fixed material bed and different column diameters, loading layer heights, flow rates, and initial concentrations of manganese ions. Under dynamic conditions, the highest purification degree (87%) belonged to the MS samples followed by the coconut carbon samples (45%) and the conventional SKD-515 material (37%).

The MS mineral sorbent proved to be the most effective manganese sorbent under static, kinetic, and dynamic conditions, demonstrating good prospects as a cheap industrial wastewater and natural water filter.

Keywords. Anthropogenic transformation, wastewater, natural water sources, adsorption, activated carbon, sorption material, manganese

Funding. The research was part of the comprehensive R&D innovative cycle “New technologies in coal mining and processing: Industrial safety and bioremediation, new products of deep coal processing, and reducing the environmental burden and hazards to Populations” (Decree of the Government of the Russian Federation no. 1144-r, May 11, 2022), supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement no. 075-15-2022-1201, September 30, 2022).

For citation: Neverov EN, Timoshchuk IV, Gorelkina AK, Ivanova LA, Mikhaylova ES, *et al.* Removal of Manganese Ions from Natural and Wastewater. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):634–647. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2598>

Введение

В результате антропогенной деградации наблюдается ухудшение состояния водных объектов. Добыче и переработке угля сопутствует разрушение природных ландшафтов и их техногенная трансформация, разрушение литологического фундамента и дефляция отвалов, контаминация воздушной среды и водотоков

примесями различного характера [1–4]. Сточные воды, формируемые на территории предприятий угледобычи, поступаая в поверхностные водотоки, подвергают их существенной контаминации и значительно снижают санитарную надежность. Угледобыча в регионах с повышенной антропогенной нагрузкой сопровождается контаминацией техносферы тяжелыми металлами,

в том числе ионами марганца [5–7]. Являясь эссенциальным микроэлементом, участвующим во многих биохимических процессах организма, данный загрязнитель в то же время обладает токсическим и канцерогенным воздействием на человека, способен вызывать нервные расстройства, марганцевый паркинсонизм, циррозы, сердечные патологии.

Обеспечение защиты водных объектов от контаминации является одной из приоритетных задач. В ресурсоориентированных регионах наблюдается значительный уровень такого воздействия на водные системы, которые по степени загрязненности в большинстве относятся к 3 (умеренно загрязненные), 4 (загрязненные) и 5 (грязные) классам качества воды. Несмотря на огромный природно-ресурсный потенциал интенсивная деятельность предприятий в Российской Федерации приводит к истощению основных биосферных функций крупнейшего экологического донора планеты [8, 9]. Согласно данным Росгидромета и ежегодным докладом Минприроды [10], в России, особенно в ресурсоориентированных регионах, наблюдаются экстремально высокие уровни загрязнения поверхностных вод по гидрохимическим показателям (рис. 1).

Кроме того, результаты гидрохимических исследований состояния подземных вод свидетельствуют о значительном превышении нормативов, рекомендованных для водных объектов рыбохозяйственного значения. Эти данные обуславливаются активным техногенным воздействием при разработках рудных, угольных месторождений и карьеров. По содержанию тяжелых металлов, например, отмечено присутствие ионов марганца в концентрациях до 20 ПДК и более. При контакте с водой данный химический элемент способен вымываться из почв и горных пород и легко мигрировать с потоками грунтовых вод. Одним из наиболее универсальных, перспективных, надежных, простых в применении и экономически обоснованных способов доочистки от ионов марганца природных

поверхностных, подземных вод и стоков является адсорбция [11–17]. Адсорбция как метод очистки сточных вод начала применяться с 30 годов прошлого столетия. В настоящее время метод активно развивается и совершенствуется. Создаются сорбционные материалы нового поколения, применяется модифицирование сорбентов. Эффективность процесса очистки в значительной степени зависит от правильного выбора сорбционного материала [18–21].

Цель работы – установить закономерности и механизм процесса адсорбции ионов марганца, исследовать различные сорбционные материалы и выявить наиболее целесообразные рекомендации для деконтаминации марганца из поверхностных, подземных и сточных вод.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования выбрано несколько вариантов сорбентов: традиционный активный уголь на основе углеродистого материала (СКД-515), который находит широкое применение при очистке сточных вод в различных отраслях промышленности и в практике водоподготовки; сорбент на основе скорлупы кокоса – кокосовый активный уголь (КАУ) – относится к возобновляемым ресурсам, характеризуется отсутствием токсичных веществ и экологически безопасной технологией производства; сорбционный материал минерального происхождения МС, который получен на основе силикатов щелочноземельных и щелочных металлов и является перспективным сорбентом нового поколения.

Проведено комплексное исследование адсорбции марганца на сорбционных материалах в равновесных, кинетических и динамических условиях. Характеристики сорбционных материалов приведены в таблицах 1 и 2. Общее количество титруемых КФГ (СОЕ, ммоль/г) для гранулированных КАУ и СКД-515 близко, количество групп основного типа (СОЕ (H⁺)) в 1,7–2,3 раза больше, чем групп кислотного типа (СОЕ (OH⁻)).

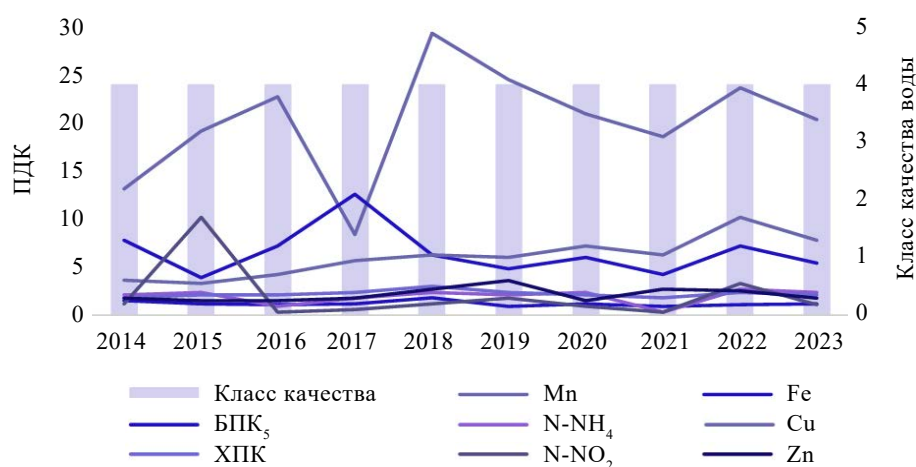


Рисунок 1. Динамика качества поверхностных водотоков Российской Федерации [10]

Figure 1. Quality of surface water sources in the Russian Federation [10]

Таблица 1. Характеристики сорбционных материалов

Table 1. Properties of sorption materials

Марка активного угля		МС	СКД-515	КАУ
Производитель		ООО «АЛСИС» (Екатеринбург)	ОАО «Сорбент» (Пермь)	ООО «Карбон» (Владимирская область)
Сырье		алюмосиликат	смесь каменных углей марок К и Д, коксо-химическая смола	скорлупа кокосовых орехов
Форма		неправильная (гранулы)	цилиндрическая (гранулы)	неправильная (дробленый)
Карбонизация и активация		–	двустадийная, парогазовая	двустадийная, парогазовая
Влагоемкость, %		–	96	93
Размер частиц, мм		0,65–1,50	0,55–1,55	0,45–1,75
Насыпная плотность, г/см ³		1,30–1,95	0,53	0,48
Прочность, %		99,9	76,0	97,0
Объем пор, см ³ /г:				
суммарный		–	0,625	0,955
макро-		–	0,070	0,218
мезо-		–	0,210	0,111
микро-		–	0,370	0,623
рН водной вытяжки		5,9	7,7	7,9
Содержание активного кислорода, ммоль-экв/г	кислотного типа общее (СОЕ OH ⁻)	0,520	0,338	0,344
	фенольный (-ОН)	0,520	0,181	0,194
	карбоксильный (-COOH)	–	–	0,090
	лактонный (-COOH)	–	0,157	0,060
	основного типа (СОЕ H ⁺)	–	0,571	0,778

Для СКД-515 и КАУ количество фенольных групп приблизительно одинаково, слабокислотных (лактонных, -COO⁻) в 2,5 раза больше на поверхности СКД-515. Содержание сильнокислотных (карбоксильных, -COOH) групп на поверхности СКД-515 не обнаружено. Каталитический алюмосиликатный сорбент МС, который включает кислородсодержащие функциональные ионообменные группы (силанольные, -SiOH; спиртовые и фенольные гидроксилы, -ОН), можно отнести к группе слабокислотных катионитов [22, 23].

Рентгеноструктурный анализ (табл. 2), позволивший установить химический состав сорбционных материалов, выполнен методом электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии на спектрометре МГА-1000.

Сорбционные материалы предварительно отмыли от фракций пыли дистиллированной водой, прогрели в течение 1,5 ч при 103 ± 1 °С для удаления влаги и охладили до температуры 22 ± 1 °С в эксикаторе.

Для выявления особенностей адсорбционного процесса исследовали адсорбционное равновесие на сорбционных материалах из растворов, содержащих Mn²⁺ в диапазоне концентраций 5–110 мг/дм³. Согласно приказу Минсельхоза РФ от 13.12.2016 № 552, ПДК Mn²⁺ для водоемов рыбохозяйственного значения составляет 0,01 мг/дм³; для централизованных систем водо-

снабжения – 0,1 мг/дм³; для скважин, родников и иных открытых источников – не более 0,5 мг/дм³, согласно СанПиН 1.2.3685-21. Используя метод молекулярно-адсорбционной спектроскопии по реакции с формальдоксимом, определяли содержание марганца. Для приготовления модельных растворов применяли MnCl₂ × 4H₂O (квалификации «ч.д.а.»).

Величина адсорбции рассчитана по разности содержания ионов Mn²⁺ до и после контакта с сорбентом в водном растворе:

$$a = \frac{C_0 - C_p}{m} \times V \quad (1)$$

где m – масса исследуемого сорбционного материала, г; V – объем раствора, контактирующего с сорбентом, см³; C_0 – исходная концентрация ионов марганца, ммоль/дм³; C_p – равновесная концентрация ионов марганца, ммоль/дм³.

Пористую структуру материалов исследовали методом адсорбционной порометрии на приборе ASAP-2400 (Micromeritics, США) [24].

Удельную поверхность определяли, исходя из величины площадки (ω), занимаемой одной молекулой адсорбата в заполненном монослое:

$$a_s = \omega \times n_m \times N_A \quad (2)$$

Таблица 2. Рентгеноструктурный анализ сорбционных материалов

Table 2. X-ray structural analysis of sorption materials

Состав \ Сорбент	СКД-515	КАУ	МС
MgO, %	0,1	0,1	6,2
Al ₂ O ₃ , %	0,5	0	0
SiO ₂ , %	8,6	5,9	16,9
P ₂ O ₅ , %	0,234	0,107	0,064
K ₂ O, %	0,12	0,48	0
CaO, %	2,16	0,59	0,34
TiO ₂ , %	0,29	0,21	0,02
Fe ₂ O ₃ , %	3,54	1,59	9,53
MnO, мг/кг	530	78	1749
V, мг/кг	0	170	0
Cr, мг/кг	26	55	1352
Co, мг/кг	67	54	100
Ni, мг/кг	49	58	1136
Cu, мг/кг	66	71	863
Zn, мг/кг	106	71	69
As, мг/кг	5	2	0
Sr, мг/кг	851	122	24
Pb, мг/кг	40	45	27
Rb, мг/кг	0	0	4
Zr, мг/кг	20	0	0
Ba, мг/кг	849	457	0

где N_A – число Авогадро; n_m – емкость монослоя (количество адсорбата в монослое). При 77 К для адсорбции азота величину ω принимают равной 0,162 нм² [24].

Метод БЭТ (Брунауэра, Эммета и Теллера) использовали для оценки удельной поверхности. Согласно теории БЭТ, изотерма адсорбции в области давлений, предшествующих началу капиллярной конденсации в мезопорах, описывается следующим аналитическим выражением:

$$\frac{P/P_0}{n(1 - P/P_0)} = \frac{1}{n_m C_{БЭТ}} + \frac{C_{БЭТ} - 1}{n_m C_{БЭТ}} \times P/P_0 \quad (3)$$

где P/P_0 – относительное давление адсорбата; $C_{БЭТ}$ – энергетическая константа уравнения БЭТ. $C_{БЭТ}$ находили графически из анализа экспериментальной зависимости в следующих координатах (от P/P_0):

$$\frac{P/P_0}{n(1 - P/P_0)}$$

Для изучения структуры поверхности, рельефа и наличия пор сорбционных материалов получали изображение методом сканирующей электронной микроскопии на электронном микроскопе растровом JSM_6460LV (Jeol, Япония).

Мольную свободную энергию Гиббса адсорбции ($-\Delta G^0$) определяли по формуле:

$$-\Delta G^0 = RT \ln K_a \quad (4)$$

где K_a – константа адсорбционного равновесия, рассчитанная по модели Ирвинга Ленгмюра.

Энтальпию (ΔH^0) рассчитали, используя мольную свободную энергию Гиббса адсорбции и правило Вант-Гоффа:

$$RT \ln K_a = \Delta H^0 + T \Delta S^0 \quad (5)$$

где ΔS^0 – энтропия адсорбции.

С использованием метода, который разработал Р. М. Марутовский [25, 26], проведена адсорбция в условиях кинетики для определения контролирующей стадии массопереноса.

Метод позволяет получить теоретические уравнения кинетики в виде зависимости относительного приближения адсорбции к равновесию (γ) ($a_t/a_p = \gamma$) от безразмерной величины T , пропорциональной времени протекания процесса. Изменение адсорбированного количества вещества от времени (t) рассчитывалось по уравнению:

$$T = -\ln(1 - \gamma) = (V_3/V_p + C_p/a_p) \beta_n t \quad (6)$$

где β_n – коэффициент внешннедиффузионного массопереноса; V_3 – суммарный объем массы адсорбента, см³; V_p – объем раствора, контактирующего с адсорбентом. Коэффициент внешннедиффузионного массопереноса (β_n) для случая линейной изотермы адсорбции рассчитывался с использованием уравнения:

$$\beta_n = \frac{\operatorname{tg} \alpha}{T} \quad (7)$$

где $\operatorname{tg} \alpha$ – тангенс угла наклона линейного участка графика зависимости коэффициента T от времени (t).

Степень деконтаминации стоков, содержащих ионы марганца (100 ПДК), исследована в динамических условиях на лабораторной установке, колонка которой заполнена фильтрующим слоем сорбента: высота слоя загрузки 0,10–0,25 м; диаметр – 0,06 м; скорость 0,5–1,5 дм³/мин.

Результаты и их обсуждение

Адсорбционные изотермы, представляющие в условиях равновесия зависимость сорбционной емкости материалов от концентрации адсорбата, относятся к ключевым критериям оценки адсорбционных свойств сорбционных материалов. Анализ форм изотерм, классифицированных немецким физиком Ханс-Кристианом Гильсом, американским химиком Стивеном Брунауэром и др., позволяет установить механизм и особенности сорбционного процесса.

По результатам экспериментальных исследований построены изотермы адсорбции ионов марганца из водных растворов в широком диапазоне концентраций (рис. 2). Анализ форм изотерм адсорбции Mn^{2+} из водных растворов на сорбционных материалах (кокосовом активном угле, СКД-515 и МС) показал, что

они имеют классический вид и относятся по классификации швейцарского физика Чарльза Гильса к изотермам типа S (тип II). То есть на начальном участке относительно оси равновесной концентрации ионов марганца в растворе изотерма имеет вогнутую форму, предполагая физический характер адсорбции и слабое взаимодействие молекул исследуемых растворов с поверхностными группами сорбентов, следовательно наличие активных центров с малой энергией взаимодействия адсорбат – адсорбент.

Исследование процесса адсорбции в статических условиях выявило зависимость снижения величины адсорбции ионов марганца из раствора на сорбционных материалах: МС > КАУ > СКД-515.

Изотермы адсорбции марганца в соответствующих координатах линеаризации для сорбционных материалов МС, СКД-515, КАУ представлены на рисунке 3. В таблице 3 приведены основные параметры сорбционного равновесия в системе марганец – сорбционный материал, рассчитанные по уравнениям немецкого физико-химика Герберта Макса Фрейндлиха и американского физико-химика Ирвинга Ленгмюра. Экспериментальные данные с высокой степенью достоверности описываются данными моделями ($R^2 > 0,91$ и 0,89 соответственно).

Расчет термодинамических параметров адсорбции выявил отрицательные значения энтальпии адсорбции

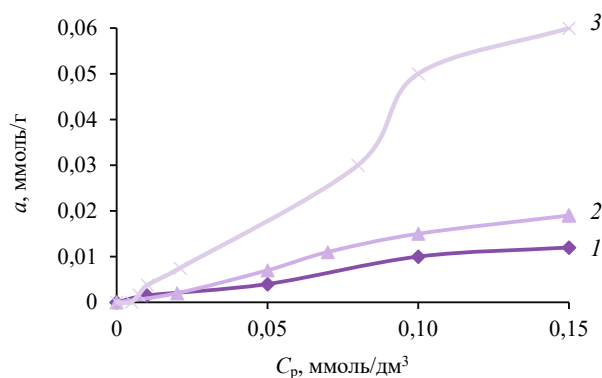


Рисунок 2. Изотермы адсорбции марганца из водных растворов на сорбционных материалах СКД-515 (1), кокосовый активный уголь (2), МС (3)

Figure 2. Manganese adsorption from water solutions: SKD-515 (1), coconut carbon (2), and MS (3): isotherms

и энергии Гиббса, свидетельствующие о том, что адсорбционный процесс на сорбционных материалах имеет экзотермический характер и протекает самопроизвольно. Между ионами марганца и углеродной поверхностью возникало сильное специфическое физическое взаимодействие. Вероятно, высокая степень извлечения ионов марганца наблюдалась за счет взаимодействия с активными центрами на поверхности в результате реакций ионного обмена, а также образования комплексов с поверхностными кислород- и азотсодержащими группами сорбентов.

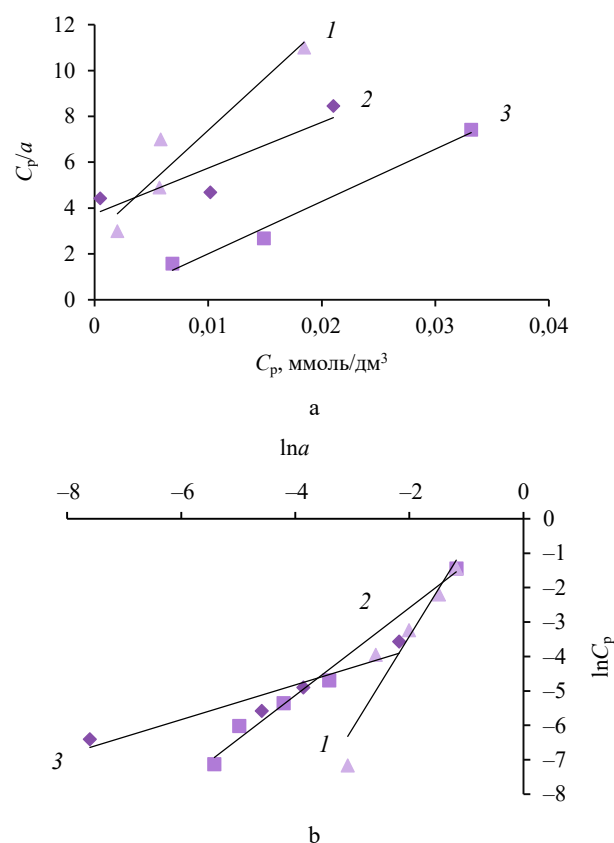


Рисунок 3. Изотермы Ленгмюра (а) и Фрейндлиха (б) при адсорбции ионов марганца из растворов на сорбционных материалах СКД-515 (1), кокосовый активный уголь (2), МС (3)

Figure 3. Manganese adsorption from solutions with SKD-515 (1), coconut carbon (2), and MS (3): Langmuir (a) and Freundlich (b) isotherms

Таблица 3. Характеристики сорбционных материалов при адсорбции марганца из раствора

Table 3. Sorption materials during manganese adsorption from different solutions

Сорбент	Модель Герберта Макса Фрейндлиха			Модель Ирвинга Ленгмюра			
	k	$1/n$	R^2	$a_{\max}$, мг/г	$-H$, кДж/моль	$-G$, кДж/моль	R^2
МС	1,240	1,40	0,9163	0,400	21,35	17,18	0,9924
Кокосовый активный уголь	0,999	0,31	0,9689	0,032	20,88	21,92	0,8899
СКД-515	0,004	0,63	0,9812	0,028	20,38	30,50	0,9394

Анализ удельной поверхности и пористой структуры сорбционных материалов выполнили методом адсорбционной порометрии, основанной на физической адсорбции простых газов при температурах равных или близким температурам их кипения при атмосферном давлении (методом азотной порометрии). На рисунке 4 представлены изотермы адсорбции N_2 (77 K)

исходного сорбента и сорбента после адсорбции марганца. Изотермы адсорбции N_2 для образцов коксового активного угля и сорбционного материала СКД-515 имеют четкий тип I с практически отсутствующим гистерезисом типа H4 (классификация IUPAC). Следовательно, данные сорбционные материалы относятся к микропористым. Распределения пор по раз-

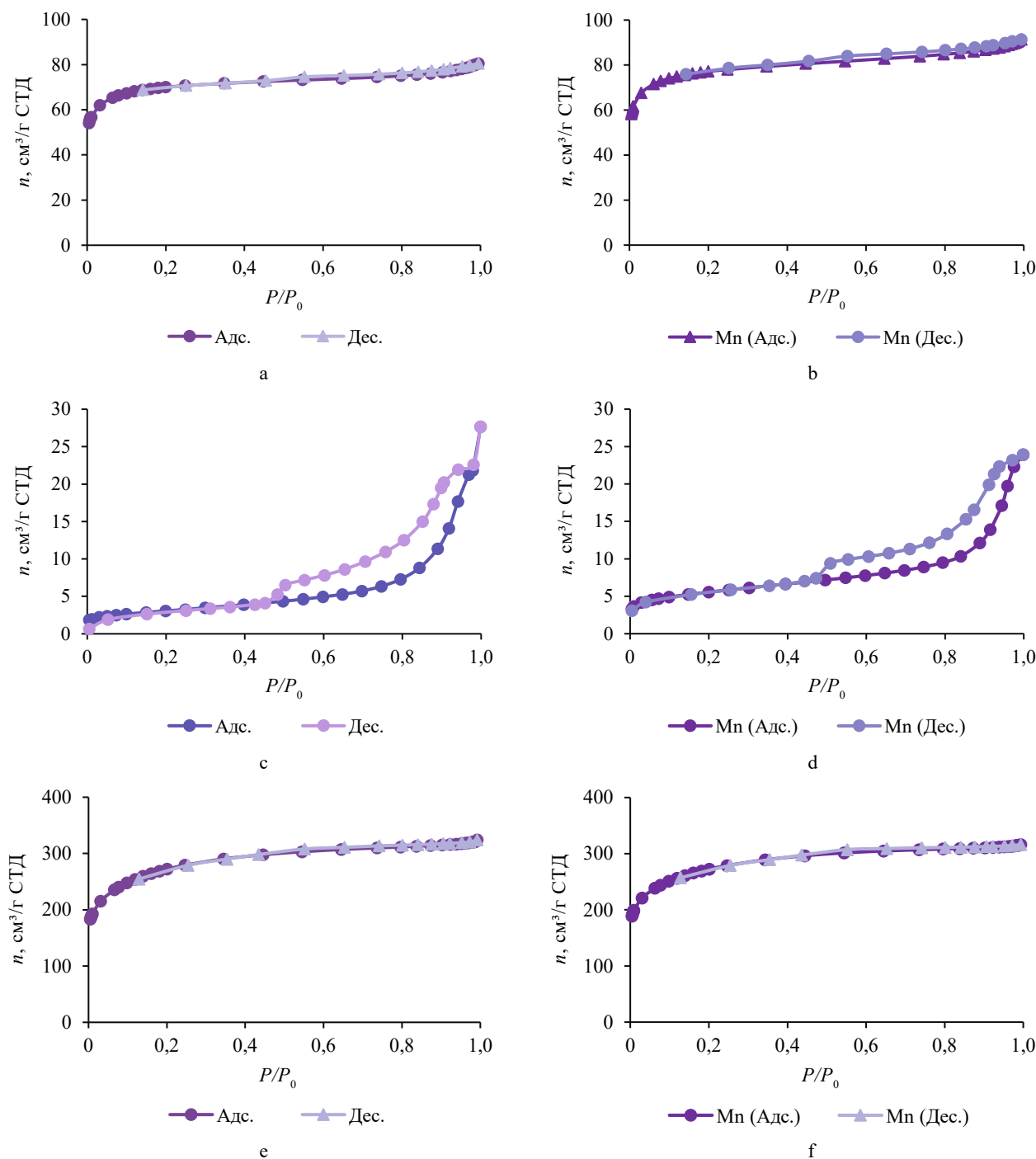


Рисунок 4. Изотермы адсорбции N_2 при 77 K на исходном и после адсорбции марганца коксовом активном угле (a, b); MC (c, d); СКД-515 (e, f)

Figure 4. Adsorption isotherms for N_2 at 77 K before and after manganese adsorption: coconut carbon (a, b); MS (c, d); and SKD-515 (e, f)

мерам, рассчитанные методом регуляризации на основе модели QSDFT для щелевидных пор в углях, показаны на рисунке 4.

Изотермы адсорбции сорбента МС можно отнести к типу II по классификации IUPAC, что характеризует материалы как мезопористые. Тип петли капиллярно-конденсационного гистерезиса соответ-

ствует H5. Обычно этот тип характерен для материалов с однородными слабо взаимосвязанными порами, имеющими перемычки (сужения-расширения). В данном случае наблюдается смыкание петель гистерезиса при $P/P_0 \sim 0,45$, что соответствует кавитационному испарению из пор размером менее 4,0 нм. На распределениях пор (рис. 5) можно наблюдать наличие

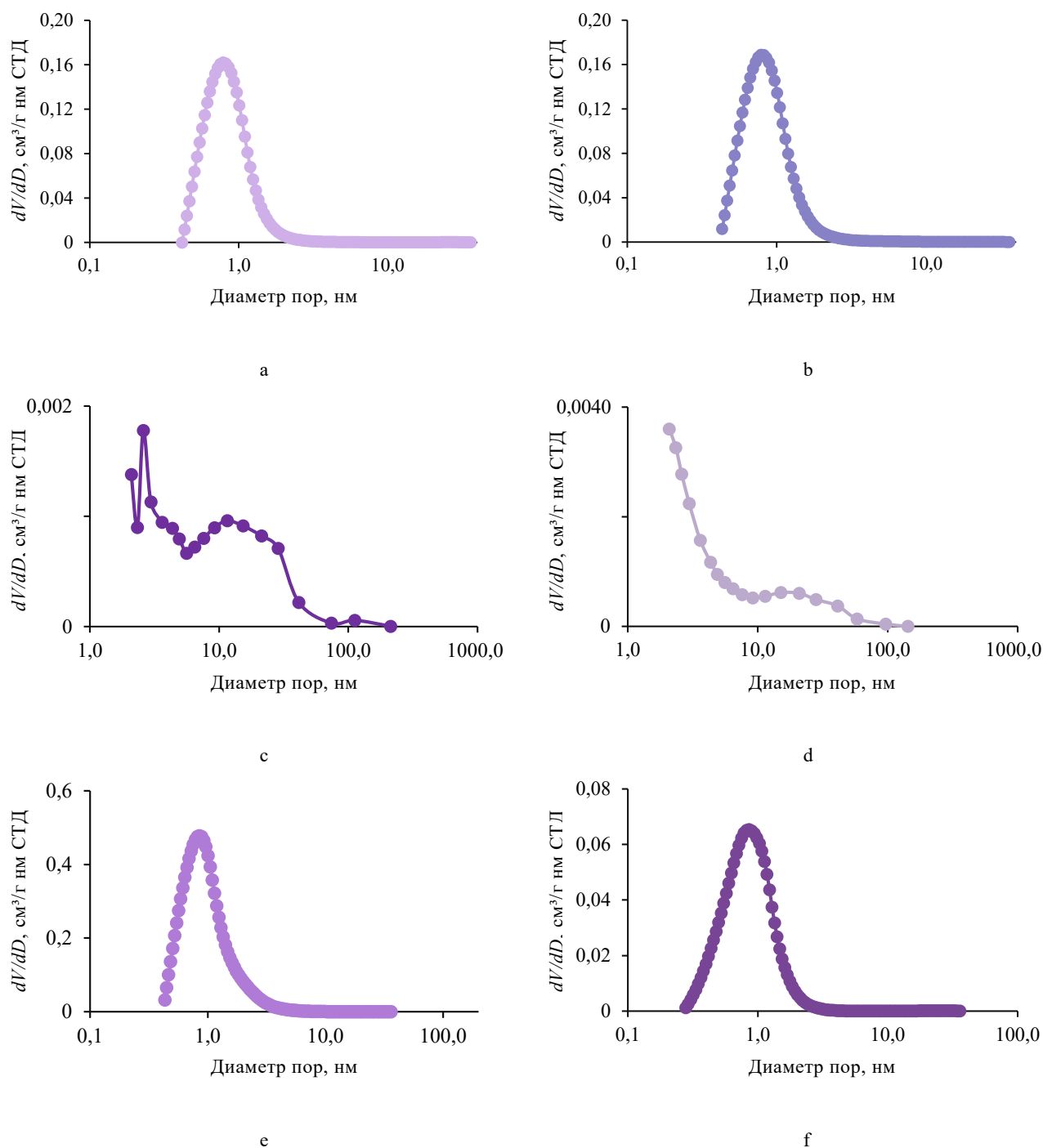


Рисунок 5. Диаметры пор по размерам на исходном и после адсорбции марганца кокосовом активном угле (a, b); МС (c, d); СКД-515 (e, f)

Figure 5. Pore diameters by size before and after manganese adsorption: coconut carbon (a, b); MS (c, d); and SKD-515 (e, f)

мезопор с характерным размером 15,0–20,0 нм. Предположительно, эти поры являются расширениями. Также в материалах присутствуют поры менее 6,0 нм, соответствующие

Все материалы характеризуются относительно широким распределением микропор в диапазоне 0,3–4,0 нм с максимумом около 0,7–0,9 нм. Текстульные характеристики образцов представлены в таблице 4.

Анализ пористой структуры сорбентов методами азотной порометрии (табл. 4) и сканирующей электронной микроскопии (рис. 6–8) показал, что в результате адсорбции ионов марганца наблюдается незначительное изменение структурно-сорбционных параметров. По-видимому, в результате адсорбции

нарушается структура кремнекислородного каркаса сорбента МС, что приводит к изменению соотношения пор. Наблюдаемое незначительное увеличение удельной поверхности сорбента (на 6,4 %) и доли мезопор (на 10,7 %) возможно за счет формирования на поверхности сорбента рыхлой корки из оксидов металла.

Как исходные сорбционные материалы СКД-515 и КАУ, так и образцы после извлечения марганца относятся к микропористым. Отмечен рост величины удельной поверхности у КАУ на 6,5 %, у СКД-515 – на 1,5 % при элиминации ионов марганца, что, вероятно, обусловлено окислительными процессами в мезопорах. Снижение объема микропор у СКД-515 на 6,6 % позволяет предположить, что ионы, содержащиеся

Таблица 4. Текстульные характеристики по данным адсорбции N_2 и Ar

Table 4. Texture profile based on N_2 and Ar adsorption

Образец	a_s , м ² /г	$C_{БЭТ}$	$a_{мезо}$, м ² /г	$V_{микро}$, см ³ /г	$V_{сумм}$, см ³ /г
МС сорбент исходный	11,0	142,0	8,4	0,001	0,029
МС после адсорбции ионов марганца	11,7	247,0	9,3	0,005	0,028
СКД-515 сорбент исходный	983,0	307,0	62,0	0,435	0,496
СКД-515 после адсорбции ионов марганца	995,0	720,0	–	0,408	0,487
Кокосовый активный уголь исходный	275,0	482,0	14,0	0,105	0,121
Кокосовый активный уголь после адсорбции ионов марганца	295,0	496,5	23,0	0,113	0,138

Примечание: a_s – удельная поверхность, $C_{БЭТ}$ – энергетическая константа уравнения БЭТ.

Note: a_s – specific surface area, $C_{БЭТ}$ – energy constant in the Brunauer – Emmett – Teller equation.

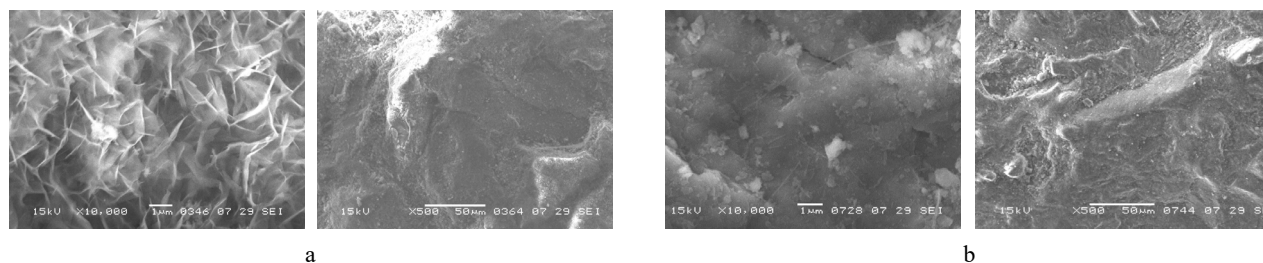


Рисунок 6. Изображения пористой структуры исходного (а) сорбционного материала МС и после извлечения марганца (б)

Figure 6. MS porous structure before (a) and after (b) manganese extraction

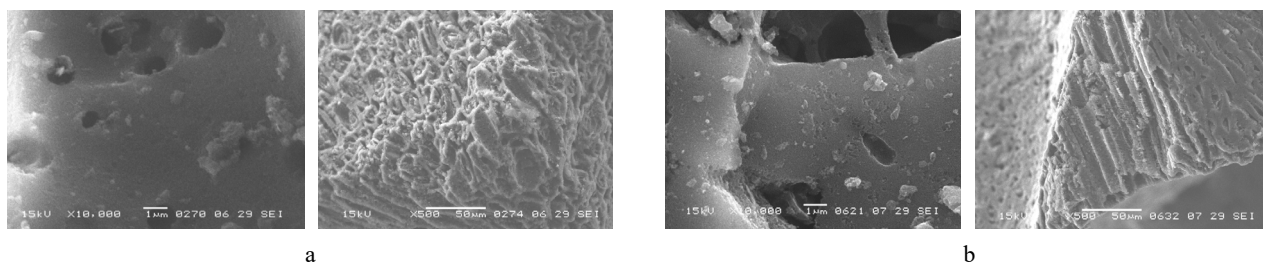


Рисунок 7. Изображения пористой структуры исходного (а) кокосового активного угля и после извлечения марганца (б)

Figure 7. Coconut carbon porous structure before (a) and after (b) manganese extraction

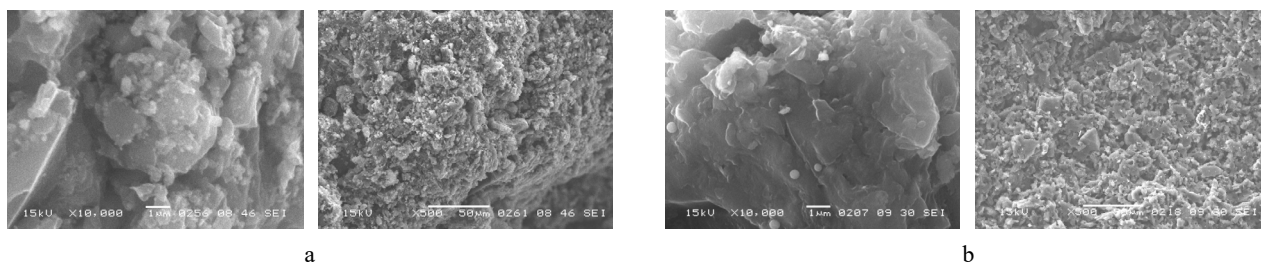


Рисунок 8. Изображения пористой структуры исходного (а) сорбционного материала СКД-515 и после извлечения марганца (b)

Figure 8. SKD-515 porous structure before (a) and after (b) manganese extraction

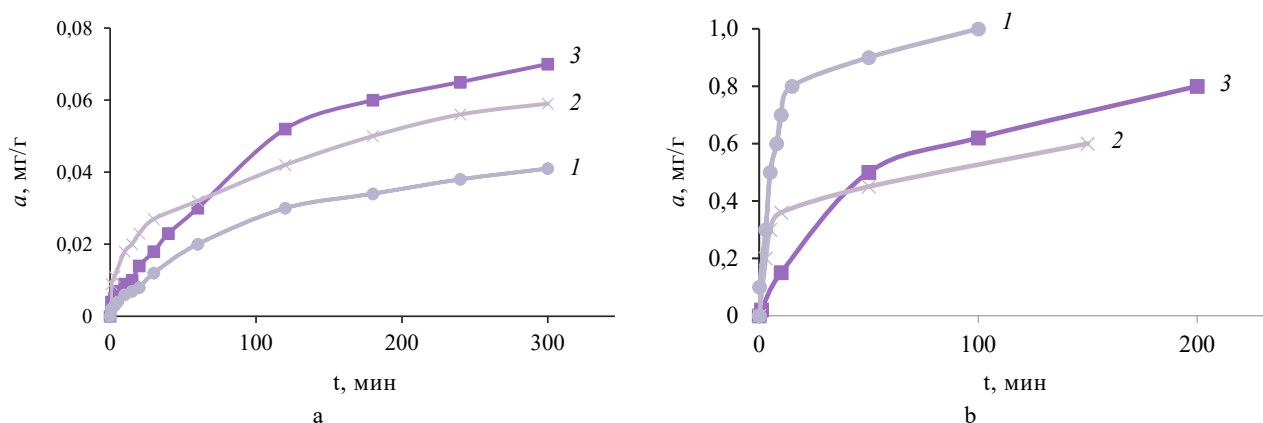


Рисунок 9. Кинетические кривые извлечения для сорбционных материалов СКД-515 (1), кокосовый активный уголь (2), МС (3): а) экспериментальные, б) теоретические

Figure 9. Kinetic extraction curves for SKD-515 (1), coconut carbon (2), and MS (3): a) experimental, b) theoretical

в водной среде, удерживаются в микропорах. Размер ионов соизмерим с размерами микропор, снижение амезо может быть связано с тем, что в мезопорах, в отличие от макропор, возможно протекание капиллярной конденсации.

Анализ изображений поверхности исследуемых сорбционных материалов с применением сканирующей электронной микроскопии показал крайнюю неравномерность структуры минерального сорбента МС и наличие дефектных участков в виде углублений. Можно предположить, что поры слабо взаимосвязаны, а также, что присутствуют перегибы (сужения-расширения). Сорбенты СКД-515 и кокосовый активный уголь относят к микропористым.

Изображения поверхности исходных образцов сорбентов СКД-515 и КАУ с различным увеличением демонстрируют структуру с относительно широким распределением микропор. Удельная поверхность и объем микро- и мезопор после сорбции ионов марганца у сорбционного материала КАУ увеличивается. Возможно, это связано с каталитическим влиянием ионов марганца на развитие процесса окисления ароматических структур сорбционного материала в водной среде и открытием полостей пор.

Кинетические исследования выполнены для выявления лимитирующей стадии процесса извлечения марганца из водных растворов на исследуемых сорбционных материалах (рис. 9). Построены зависимости рассчитанных безразмерных кинетических параметров (T) от величины эмпирического времени протекания процесса (τ). Линейная графическая зависимость рассчитанной теоретически T от τ свидетельствует о процессе внешнего массопереноса до момента ее отклонения от прямой, то есть той точки, от которой наблюдается падение скорости внешнего массопереноса пропорционального градиенту.

Линейная зависимость установлена для сорбционного материала МС на протяжении 45 мин, для КАУ линейная зависимость составила 10 мин, для СКД-515 – до 20 мин. В данные промежутки времени кинетика извлечения лимитировалась внешнедиффузионным режимом кинетики сорбции, но со временем процесс извлечения в меньшей степени начинал подчиняться внешнему массопереносу и контроль над кинетикой процесса брал внутренний массоперенос.

По результатам кинетических исследований по тангенсу угла наклона линейной зависимости T от t рассчитаны коэффициенты внешнего массопереноса

системы сорбент – вода – марганец для МС – 0,093; СКД-515 – 1,120; кокосовый активный уголь – 0,087.

Полученные результаты позволяют ожидать высокую скорость и эффективность деконтаминации ионов марганца при фильтрации через неподвижный слой сорбента.

Для снижения начальной концентрации ионов меди в сточных, поверхностных и подземных водах до норм ПДК рыбхоз на этапе моделирования работы сорбционной колонны с неподвижным слоем материала в динамических условиях варьировали диаметр колонны, высоту слоя загрузки, скорость потока, исходную концентрацию ионов марганца. Цикл сорбция-десорбция повторяли 5 раз. Для адсорбции ионов марганца применяли лабораторную установку, представленную на рисунке 10.

Через экспериментальную установку пропускали модельный раствор, содержащий ионы марганца с концентрацией 0,2 мг/дм³ (20 ПДК) со скоростью 1–5 м/ч, объем 100 л. Предварительно раствор поступал в сосуд Е1 и затем насосом перекачивался в колонну. Скорость подачи раствора контролировали кранами. Элюат, выходящий из колонны, анализировали на наличие ионов марганца.

Экспериментальные данные показали, что степень очистки в динамических условиях снижается. Для сорбционного материала МС на втором цикле снижение составило 17 %, а к концу 5 цикла упало до 40 % (рис. 11). Итоговая степень очистки для МС равна 87 %. Для кокосового активного угля наблюдалось снижение с 45 до 10 %. Для сорбента СКД-515 отмечено снижение с 34 до 16 % с 1 по 5 цикл.

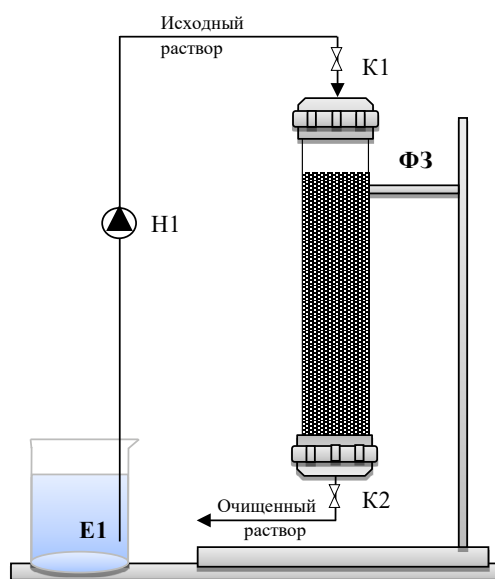


Рисунок 10. Принципиальная схема лабораторной установки сорбционной очистки

Figure 10. Laboratory sorption installation

Для рекомендации конструктивных характеристик и параметров деконтаминации предлагаемой сорбционной колонны ключевое значение имеет этап математического моделирования на основе теории адсорбционных процессов. В основе выбора адекватной математической модели лежит конвергентность сорбционных кривых, которые получены экспериментально и расчетным путем с применением фундаментальных уравнений внешнEDIффузионной динамики.

На рисунке 12 представлены экспериментальные и расчетные выходные кривые, полученные с применением фундаментальных уравнений внешнEDIффузионной динамики адсорбции для системы марганец – вода – сорбционный материал. Эти кривые отличаются

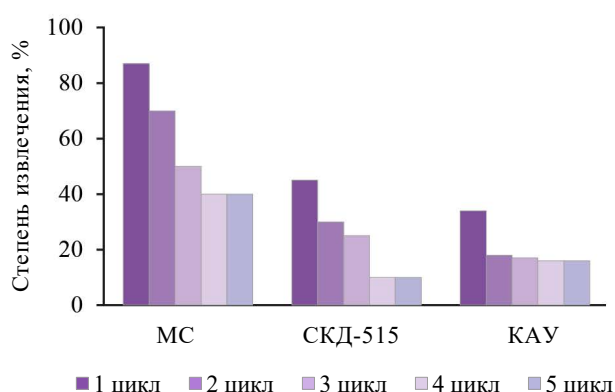


Рисунок 11. Степень извлечения марганца из раствора различными сорбционными материалами

Figure 11. Removal of manganese ions by different sorbents

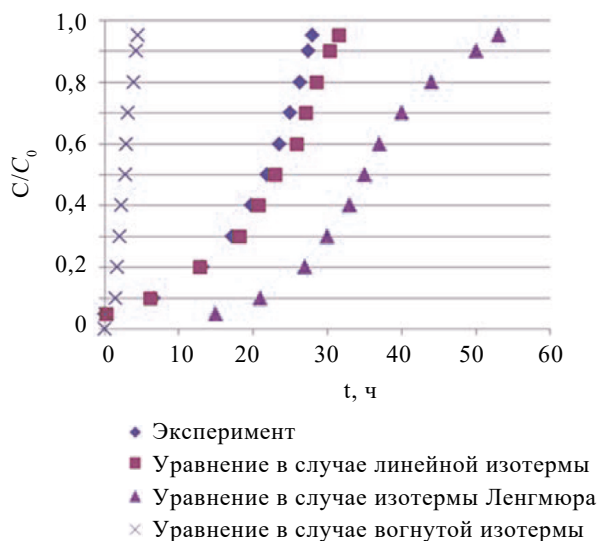


Рисунок 12. Выходные динамические кривые адсорбции системы марганец – вода – сорбционный материал МС при высоте слоя 0,1 м и скорости потока 3 м/ч

Figure 12. Output dynamic adsorption curves for manganese – water – MS: layer height = 0.1 m, flow rate = 3 m/h

Таблица 5. Динамические характеристики адсорбционной деконтаминации ионов марганца

Table 5. Manganese removal dynamics

Длина адсорбционного слоя, м	Скорость фильтрования, м/ч	Длина неиспользованного слоя, м	Коэффициент защитного действия	Продолжительность работы неподвижного слоя до проскока, сутки	Количество воды, очищенной до проскока, м ³
1	1	0,0498	1660,20	1497,813	3185,22
1	2	0,0588	1084,33	958,75	6370,55
1	3	0,0651	630,86	582,90	9555,25
2	1	0,0600	1660,20	3055,40	6368,33
2	2	0,0770	1084,33	2088,57	12736,66
2	3	0,0890	630,86	1208,66	19105,50
3	1	0,0661	1660,20	4599,64	9433,33
3	2	0,0835	1084,33	3120,40	18866,66
3	3	0,1121	630,86	1705,12	28300,60

Таблица 6. Удельная стоимость очистки сточных вод от ионов марганца сорбционными материалами

Table 6. Specific cost of manganese sorption wastewater treatment

Показатель	Сорбент	МС	Кокосовый активный уголь	СКД-515
Количество очищенной воды (до уровня ПДК), м ³		6300	5950	5470
Удельная стоимость очистки стоков, руб./м ³		84	184	166
Стоимость загрузки (лабораторная установка), руб.		54	112	94

высокой степенью сходимости, что дает возможность оптимизировать параметры адсорбционной колонны, а также режима непрерывной очистки без трудоемких эмпирических исследований. В таблице 5 приведены рассчитанные динамические характеристики процесса адсорбционной деконтаминации ионов марганца при разных параметрах колонны и варьирующихся режимах работы.

Расчет экономической эффективности позволил установить, что для элиминации сточных, поверхностных и подземных вод от ионов марганца наиболее целесообразно использовать сорбционный материал МС, изготовленный на основе силикатов щелочных и щелочноземельных металлов. МС является наиболее перспективным материалом нового поколения, эффективным и экономически доступным. Удельная стоимость элиминации от ионов марганца 1 м³ сточных вод сорбционными материалами представлена в таблице 6.

Для предприятий расчет платы за сброс загрязняющего вещества (например, марганца) в составе сточных вод, превышающего установленные нормативы ($P_{\text{норм.сост.}}$, руб.), в Российской Федерации вычисляется по формуле:

$$P_{\text{норм.сост.}} = 2 \times T \times Q_{\text{пр1}} \quad (8)$$

где T – тариф на водоотведение, действующий для абонента, без учета налога на добавленную стоимость, учитываемого дополнительно, руб./м³; $Q_{\text{пр1}}$ – объем сточных вод, отведенных с объекта (предприятия), м³.

К примеру, для небольшого предприятия, объем сточных вод которого составил 200 000 м³, при среднем тарифе на водоотведение по Кемеровской области 19,61 руб./т (по состоянию на 2025 г.):

$$P_{\text{норм.сост.}} = 2 \times 19,61 \times 200\,000 = 7,844 \text{ млн руб.} \quad (9)$$

Расчитан экономический эффект от применения рекомендованного сорбционного материала МС в качестве загрузки при отсутствии превышений установленных нормативов. Он составит 7,844 млн руб., что является чистым экономическим эффектом (предотвращенным экологическим ущербом).

Выводы

Анализ пористой структуры сорбентов методами азотной порометрии и сканирующей электронной микроскопии показал, что исходный сорбент и его образцы после адсорбции марганца на основе СКД-515 и кокосового активного угля являются микропористыми без заметного вклада мезопор, МС относится к мезопористым материалам. В результате адсорбции ионов марганца наблюдается незначительное изменение структурно-сорбционных параметров: нарушается структура кремнекислородного каркаса сорбента МС, что приводит к изменению соотношения пор; удельная поверхность КАУ возрастает в связи с каталитическим влиянием ионов марганца на развитие окисления ароматических структур сорбента в водной среде.

Комплексное исследование процесса адсорбции ионов марганца в статических, кинетических и дина-

мических условиях показало высокую поглотительную способность сорбционных материалов по отношению к ионам марганца, а также позволило расположить их по степени извлечения тяжелого металла в ряд: МС > кокосовый активный уголь > СКД-515.

Для сорбционного материала на основе силикатов щелочных и щелочноземельных металлов МС адсорбция марганца преимущественно протекает в микропорах, для сорбента кокосового активного угля (на основе скорлупы кокоса) и углеродистого сорбента СКД-515 – в мезопорах. По результатам комплексного исследования процесса адсорбции ионов марганца в статических, кинетических и динамических условиях для практического применения при очистке сточных вод и водоподготовке сорбционный материал МС может быть рекомендован в связи с низкой стоимостью и высокой эффективностью.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в подготовке и написании статьи.

Конфликт интересов

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

Contribution

All the authors bear equal responsibility for the content of the article.

Conflict of interest

The authors declared no potential conflict of interest regarding the research, authorship, and / or publication of this article.

Список литературы / References

1. Шестова Г. В., Иванова Т. М., Ливанов Г. А., Сизова К. В. Токсические эффекты марганца как фактор риска для здоровья населения. Медицина экстремальных ситуаций. 2014. № 4. С. 59–65. [Shestova GV, Ivanova TM, Livanov GA, Sizova KV. Manganese toxic properties and manganese toxicity as a threat to public health. Medicine of extreme situations. 2014; (4):59–65. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/TCUVMF>
2. Огрызкова О. С., Эйрих А. Н., Серых Т. Г., Дрюпина Е. Ю., Усков Т. Н. и др. Сезонные изменения содержания марганца в воде Новосибирского водохранилища. Известия Алтайского государственного университета. 2014. № 3–2. С. 176–180. [Ogryzkova OS, Eirikh AN, Serykh TG, Dryupina EYu, Uskov TN, et al. Manganese content seasonal dynamics in the water of Novosibirsk reservoir. Izvestiya of Altai State University Journal. 2014;(3–2):176–180. (In Russ.)] [https://doi.org/10.14258/izvasu\(2014\)3.2-31](https://doi.org/10.14258/izvasu(2014)3.2-31)
3. Ivanova S, Vesnina A, Fotina N, Prosekov A. An overview of carbon footprint of coal mining to curtail greenhouse gas emissions. Sustainability. 2022;14(22):15135. <https://doi.org/10.3390/su142215135>
4. Шакирова В. В., Садомцева О. С., Кошкин Е. М., Кожина А. Д. Исследование процессов сорбции некоторых ионов тяжелых металлов на природных материалах. Естественные науки. 2016. № 4. С. 118–124. [Shakirova VV, Sadomtseva OS, Koshkin EM, Kozhina AD. Research of processes of sorption of some ions of heavy metals on natural materials. Natural Sciences. 2016;(4):118–124. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/XVNHKZ>
5. Saranya A, Sasikala S, Muthuraman G. Removal of manganese from ground/ Drinking water at south madras using natural adsorbents. International Journal of Recent Scientific Research. 2017;8(6):17867–17876.
6. Suhendrayatna, Zaki M, Delima Habdani Harahap A, Verantika F. Adsorption of Manganese (II) ion in the water phase by citric acid activated carbon of rice husk. Proceedings of MICoMS. 2017;(1):547–554. <https://doi.org/10.1108/S2516-2853201801>
7. Осинцева М. А., Дюкова Е. А., Ульянова Е. Г., Осинцев А. М. Изучение способности аккумуляции тяжелых металлов растениями в процессе рекультивации отвала угольного разреза. Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 4. С. 897–908. [Osintseva MA, Dyukova EA, Ulyanova EG, Osintsev AM. Heavy metals accumulation in plants during coal mine reclamation. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(4):897–908. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-4-2551>
8. Tran TN, Kim D-G, Ko S-O. Adsorption mechanisms of manganese (II) ions onto acid-treated activated carbon. KSCE Journal of Civil Engineering. 2018;22(10):3772–3782. <https://doi.org/10.1007/s12205-018-1334-6>
9. Yang X, Wan Y, Zheng Y, He F, Yu Z, et al. Surface functional groups of carbon-based adsorbents and their roles in the removal of heavy metals from aqueous solutions: A critical review. Chemical Engineering Journal. 2019;366:608–621. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.119>
10. Dong L, Liu W, Jiang R, Wang Z. Study on the adsorption mechanism of activated carbon removing low concentrations of heavy metal. Desalination and Water Treatment. 2016;57(17):7812–7822. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1100140>
11. О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2023 году. Проект Государственного доклада. – М.: Минприроды России; ООО «Интеллектуальная аналитика»; ФГБУ «Дирекция НТП»; Фонд экологического мониторинга и международного технологического сотрудничества, 2024. – 707 с. [On the State and Environmental Protection in the Russian Federation in 2023. Draft National Report. – Moscow: Ministry of Natural Resources and Environment of Russia; LLC "Intellectual Analytics"; Federal State Budgetary Institution "Directorate for Innovative Technologies"; Environmental Monitoring and International Technological Cooperation Fund, 2024. – 707 p. (In Russ.)]

12. Бибанаева С. А., Скачков В. М. Сорбция тяжелых металлов из водных растворов синтетическими цеолитами. Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов. 2023. № 15. С. 924–929. [Bibanaeva SA, Skachkov VM. Sorption of heavy metals from aqueous solutions with synthetic zeolites. Physical and chemical aspects of the study of clusters, nanostructures and nanomaterials. 2023;(15):924–929. (In Russ.)] <https://doi.org/10.26456/pcascnn/2023.15.924>
13. Полещук И. Н., Пинигина И. А., Созыкина Е. С. Извлечение ионов железа (III) из водных растворов модифицированными природными сорбентами. Современные наукоемкие технологии. 2019. № 3–2. С. 227–231. [Poleshchuk IN, Pinigina IA, Sozykina ES. Extracting ions of iron (III) from aqueous solutions by natural sorbents modified. Modern high technologies. 2019;(3–2):227–231. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/ZEKOVN>
14. Иванова Л. А., Тимошук И. В., Горелкина А. К., Михайлова Е. С., Голубева Н. С. и др. Выбор сорбента для элиминации ионов железа из сточных и природных вод. Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 398–411. [Ivanova LA, Timoshchuk IV, Gorelkina AK, Mikhaylova ES, Golubeva NS, *et al.* Removing excess iron from sewage and natural waters: Selecting optimal sorbent. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(2):398–411. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2516>
15. Chakraborty R, Asthana A, Singh AK, Jain B, Susan ABH. Adsorption of heavy metal ions by various low-cost adsorbents: A review. International Journal of Environmental Analytical Chemistry. 2022;102(2):342–379. <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1722811>
16. Rada AO, Kuznetsov AD. Digital inventory of agricultural land plots in the Kemerovo Region. Foods and Raw Materials. 2022;10(2):206–215. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-2-529>
17. Гончиков В. Ч., Губайдулина Т. А., Каминская О. В., Апкармян А. С. Фильтрующий материал для очистки воды от железа, марганца и сероводорода. Известия Томского политехнического университета. 2012. Т. 320. № 3. С. 37–40. [Gonchikov VCh, Gubaidulina TA, Kaminskaya OV, Apkarian AS. Sorption materials for iron, manganese, and hydrogen sulfide removal from water. Bulletin of Tomsk Polytechnic University. 2012;320(3):37–40. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/OXJTBN>
18. Diaz-Alarcón JA, Alfonso-Pérez MP, Vergara-Gómez I, Díaz-Lagos M, Martínez-Ovalle SA. Removal of iron and manganese in groundwater through magnetotactic bacteria. Journal of Environmental Management. 2019;249:109381. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109381>
19. Du X, Yang W, Liu Y, Zhang W, Wang Z, *et al.* Removal of manganese, ferrous and antibiotics from groundwater simultaneously using peroxymonosulfate-assisted in-situ oxidation/Coagulation integrated with ceramic membrane process. Separation and Purification Technology. 2020;252:117492. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117492>
20. Du X, Liu G, Qu F, Li K, Shao S, *et al.* Removal of iron, manganese and ammonia from groundwater using a PAC-MBR system: The anti-pollution ability, microbial population and membrane fouling. Desalination. 2017;403:97–106. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2016.03.002>
21. Просеков А. Ю., Тимошук И. В., Горелкина А. К., Михайлова Е. С., Голубева Н. С. и др. Сравнительная оценка содержания загрязняющих примесей в карьерных сточных водах угольных предприятий Кузбасса. Уголь. 2023. № 4. С. 69–73 [Prosekov AYU, Timoshchuk IV, Gorelkina AK, Mikhailova ES, Golubeva NS, *et al.* Comparative assessment of the content of pollutants in quarry wastewater of Kuzbass coal enterprises. Ugol'. 2023;(4):69–73. (In Russ.)] <https://doi.org/10.18796/0041-5790-2023-4-69-73>
22. Timoshchuk IV. Technology of afterpurification of drinking water from organic contaminants in production of food-stuff. Foods and Raw Materials. 2016;4(1):61–69. <https://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-1-61-69>
23. Михайлова Е. С., Горелкина А. К., Тимошук И. В., Семенова С. А. Исследование динамики извлечения катионов металлов алюмосиликатами. Уголь. 2024. № S11. С. 53–57. [Mikhaylova ES, Gorelkina AK, Timoshchuk IV, Semenova SA. Investigation of aluminosilicate metal cations extraction dynamics. Ugol'. 2024;(S11):53–57. (In Russ.)] <http://doi.org/10.18796/0041-5790-2024-11S-53-57>
24. Parfitt G, Rochester C. Adsorption from solution at the solid-liquid interface. London, NY: Academic Press; 1983. 416 p.
25. Mel'gunov MS, Ayupov AB. Direct method for evaluation of BET adsorbed monolayer capacity. Microporous and Mesoporous Materials. 2017;243:147–153. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2017.02.019>
26. Федоткин И. М., Когановский А. М., Рода И. Г., Марутовский Р. М. Об определении коэффициента внешнего массообмена и адсорбции из растворов. Физическая химия. 1974. Т. 48. № 2. С. 473–475. [Fedotkin IM, Koganovsky AM, Roda IG, Marutovsky RM. Determining external mass transfer and adsorption coefficients in solutions. Physical chemistry. 1974;48(2):473–475. (In Russ.)]

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2600>
<https://elibrary.ru/OMIFCY>

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

Значение бактериофагов в управлении рисками безопасности ферментированных видов молочной продукции



В. И. Ганина^{1,2,*}, М. А. Гришина², М. В. Колесник³,
А. К. Самолыго³, И. Н. Мозговая^{2,4}, И. И. Ионов⁵

¹ Московский государственный университет технологий и управления имени К. Г. Разумовского (Первый казачий университет), Москва, Россия

² ООО «Угличская биофабрика», Углич, Россия

³ Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, Россия

⁴ ООО «Биосистема», Москва, Россия

⁵ Российский биотехнологический университет, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 15.06.2025

Принята после рецензирования: 29.08.2025

Принята к публикации: 02.09.2025

*В. И. Ганина: vigan5428@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-3119-7016>

М. В. Колесник: <https://orcid.org/0000-0002-7997-657X>

И. И. Ионов: <https://orcid.org/0000-0002-3118-3554>

© В. И. Ганина, М. А. Гришина, М. В. Колесник, А. К. Самолыго,
И. Н. Мозговая, И. И. Ионов, 2025



Аннотация.

Микробиологические показатели продукции на молочных предприятиях – одни из важнейших факторов, влияющие на возможные риски безопасности производства. Бактериофаги, лизирующие заквасочную микрофлору, могут инициировать возникновение рисков нарушения процессов ферментации при получении молочной продукции. Цель исследования – изучить факторы, оказывающие влияние на развитие фаговой ситуации при производстве ферментированных видов молочной продукции в разные сезоны года; вновь выделенные бактериофаги и системы защиты от них у изученных штаммов лактококков.

Объекты исследования – молоко, сливки и обезжиренное молоко сырые; сухое цельное и обезжиренное молоко; творожная и подсырная сыворотки; штаммы лактококков разных видов из биобанка ООО «Угличская биофабрика» с разным индексом фагоустойчивости, депонированные в Биоресурсном центре «Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов»; два вновь выделенных бактериофага ph. 1622 и ph. 1623. Применяли стандартные микробиологические, генетические и математические методы анализа. Количество мезофильных аэробных и анаэробных микроорганизмов определяли методом посева на плотную питательную среду (ГОСТ 32904-2014); титр бактериофагов – двухслойным методом посевов; геномную ДНК бактериофагов выделяли фенол-хлороформной экстракцией с последующим осаждением изопропанолом, а ее целостность определяли электрофоретическим разделением в агарозном геле.

Получены данные об изменении количества фаговых частиц в сырье, изменчивости по отношению к фагам мезофильных лактококков по сезонам года, а также о генетике вновь выделенных бактериофагов из промышленных образцов. Наибольшее количество фаговых частиц выявили в молочном сырье летнего периода, а наименьшее – зимнего. Количество фаговых частиц коррелировало с бактериальной обсемененностью образцов. Индекс фагоустойчивости у *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris* и *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* менялся по сезонам, наибольшая изменчивость зафиксирована у *L. lactis* subsp. *lactis* – кислотообразователя заквасок. Для создания панелей фагоальтернативных штаммов у фагов ph. 1622 и ph. 1623, выделенных из промышленных образцов, изучены ДНК и аминокислотные последовательности белков фагов.

Результаты исследования показывают сезонную изменчивость изученных культур молочнокислых бактерий и активности бактериофагов, влияющих на качество и безопасность молочной продукции. ДНК фагов ph. 1622 и ph. 1623 отличаются друг от друга по паттерну рестрикции, следовательно, это разные фаги. Сравнение их геномов выявило сходство с ранее изученным и известным бактериофагом c2, поражающим *L. lactis*. Новые бактериофаги могут проявлять разные системы поражения клеток лактококков. Вставка в геноме фага ph. 1623 кодирует орфанную ДНК-метилтрансферазу, потенциально подавляющую иммунные системы бактерий. Однако необходимы дальнейшие исследования по определению профилей фагочувствительности штаммов лактококков и их защитных систем.

Ключевые слов. Бактериофаги, безопасность, кисломолочные продукты, сыры, лактококки, закваски

Финансирование. Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда (№ 24-14-00181).

Для цитирования: Ганина В. И., Гришина М. А., Колесник М. В., Самолыго А. К., Мозговая И. Н. и др. Значение бактериофагов в управлении рисками безопасности ферментированных видов молочной продукции. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 648–658. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2600>

Bacteriophages in Food Safety: Fermented Dairy Products



Vera I. Ganina^{1,2,*}, Maria A. Grishina², Matvey V. Kolesnik³,
Aleksei K. Samolygo³, Irina N. Mozgovaya^{2,4}, Inna I. Ionova⁵

¹ Moscow State University of Technologies and Management (First Cossack University), Moscow, Russia

² Uglich Biofabrika Ltd, Uglich, Russia

³ Institute of Gene Biology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁴ Biosistema Ltd, Moscow, Russia

⁵ Russian Biotechnological University, Moscow, Russia

Received: 15.05.2025

Revised: 29.08.2025

Accepted: 02.09.2025

*Vera I. Ganina: vigan5428@yandex.ru,

<https://orcid.org/0000-0002-3119-7016>

Matvey V. Kolesnik: <https://orcid.org/0000-0002-7997-657X>

Inna I. Ionova: <https://orcid.org/0000-0002-3118-3554>

© V.I. Ganina, M.A. Grishina, M.V. Kolesnik, A.K. Samolygo,
I.N. Mozgovaya, I.I. Ionova, 2025



Abstract.

Microbiological indicators make it possible to reveal potential safety risks in the dairy industry. Bacteriophages affect the lysis of starter cultures because they can disrupt fermentation processes in dairy production. This study featured the seasonal factors that affect the phage status during dairy fermentation, the newly isolated bacteriophages, and the defense systems used by lactococci strains.

The research featured raw milk, cream, and skim milk; whole and skim milk powders; curd and cheese whey; strains of lactococci from different species with different phage resistance (Uglich Biofabrika Ltd; Bioresource Center of All-Russian Collection of Industrial Microorganisms); two new bacteriophages ph. 1622 and ph. 1623. The research relied on a number of standard microbiological, genetic, and mathematical methods. The mesophilic aerobic and anaerobic microbial count was performed by inoculation on a dense nutrient medium (State Standard GOST 32904-2014) while the two-layer inoculation method revealed the bacteriophage titer. The genomic DNA analysis involved a phenol–chloroform extraction followed by precipitation with isopropanol and electrophoretic separation in agarose gel.

The experiments yielded reliable data on the quantitative change of phage particles in the raw material, the seasonal variability of mesophilic lactococci phages, and the genetics of the new industrial bacteriophages. The highest count of phage particles belonged to the samples obtained in the summer whereas the lowest was associated with the winter samples. The count of phage particles correlated with the bacterial contamination of the samples. The phage resistance index in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, and *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* had a seasonal character, the highest variability being recorded in *L. lactis* subsp. *lactis*, i.e., an acid former of starters. The DNA and amino acid sequences of phage proteins in phages ph. 1622 and ph. 1623 isolated from industrial samples made it possible to create panels of phage alternative strains.

The seasonal variability in lactic acid bacteria cultures and bacteriophage activity may affect the quality and safety of dairy products. The DNA of ph. 1622 and ph. 1623 differed in restriction patterns, which means they were distinct phages. Comparative genomics revealed their similarity to the well-known *L. lactis*-infecting c2 phage. The new phages exhibited different lactococcal cell infection mechanisms. The ph. 1623 genome insertion encoded an orphan DNA methyltransferase that could potentially suppress bacterial immune systems. Further research may reveal lactococcal phage sensitivity and defense mechanisms.

Keywords. Bacteriophage, safety, fermented dairy products, cheese, lactococci, starters

Funding. The research was supported by the Russian Science Foundation, grant no. 24-14-00181.

For citation: Ganina VI, Grishina MA, Kolesnik MV, Samolygo AK, Mozgovaya IN, *et al.* Bacteriophages in Food Safety: Fermented Dairy Products. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):648–658. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2600>

Введение

Распоряжение Правительства Российской Федерации № 1364-Р от 29.06.2016 направлено на своевременное устранение рисков, способных приводить к возникновению пищевых инфекций, а также к ухудшению

показателей качества и безопасности выпускаемой продукции [1]. Производство ферментированных видов молочной продукции занимает порядка 50 % от всех вырабатываемых и реализуемых молочных продуктов на российском рынке [2]. Система менеджмента

безопасности предусматривает внедрение комплексных подходов в управление рисками, связанными с минимизацией опасных микробиологических факторов на предприятии, например, фаголизис заквасочной микрофлоры [3, 4]. Проблема фаголизиса обусловлена несколькими факторами, к основным из которых относят: наличие фагов в исходном молочном сырье; устойчивость фаговых частиц к тепловой обработке сырья; взаимосвязь между количеством фаговых частиц и бактериальной обсемененностью молочного сырья; изменения фагов и фагоустойчивости лактококков; фагоустойчивость применяемых заквасок; применение схемы ротации фагоальтернативных заквасок и соблюдения санитарно-гигиенических условий, мойки и дезинфекции оборудования и др.

Поражение заквасочной микрофлоры бактериофагами достаточно давно изучается учеными как в нашей стране, так и за рубежом. Это дает понимание о том, что существуют разные причины ее возникновения, которые до настоящего времени в полной мере еще не изучены [5–8].

Результаты исследований по определению количества фаговых частиц в типовых контрольных критических точках по ходу технологии ферментированных видов молочной продукции позволили заключить, что их значение зависит от нескольких причин. Для снижения возможности возникновения фаговых атак на полезную микрофлору заквасок, которые применяются при производстве кисломолочной продукции и сыров, необходимо знать эти причины, чтобы своевременно разрабатывать и реализовывать корректирующие мероприятия, влияющие на развитие бактериофагов на молочном предприятии.

Следует учитывать также изменение бактериофагов, циркулирующих на предприятиях, и проводить изучение типов бактериальных иммунных систем, защищающих клетки бактерий от бактериофагов. В ряде научных работ показаны пути для предсказания бактериальных иммунных систем в бактериальных геномах [9]. Исследование геномных последовательностей бактериофагов, заражающих лактобактерии, и геномных последовательностей штаммов с известными фаготипами позволит определить детерминанты устойчивости клеток к бактериофагам (в том числе иммунные системы, защищающие против определенных фагов) и анти-защитные компоненты бактериофагов, позволяющие им подавлять системы бактериального иммунитета. В совокупности это предоставит возможность рационального дизайна заквасок, содержащих лактобактерии с максимально широким спектром устойчивости к фагам.

Цель исследования – изучить факторы, влияющие на развитие фаговой ситуации при производстве ферментированных видов молочной продукции в течение разных сезонов года; вновь выделенные бактериофаги и системы защиты от них у изученных штаммов лактококков.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования – сырое молоко, сливки и обезжиренное молоко; сухое цельное и обезжиренное молоко; творожная и подсырная сыворотки; штаммы лактококков разных видов из биобанка ООО «Угличская биофабрика» с разным индексом фагоустойчивости, в т. ч. очень фагочувствительные, депонированные в Биоресурсном центре «Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов» (БРЦ ВКПМ) и зарегистрированные под номерами В-5596, В-5597, В-1574, В-1580, В-1581, В-2025; В-9469. Объектом также являлись два вновь выделенных бактериофага ph. 1622 и ph. 1623 из творожной молочной сыворотки (творог вырабатывали кислотным способом с применением закваски, состоящей из мезофильных лактококков).

При проведении исследования применяли стандартные микробиологические методы в соответствии с ГОСТ 32904-2014, а также двухслойный метод по определению количества фаговых частиц (титр бактериофагов) на агаризованных питательных средах: М17 и гидролизованном молоке (при разбавлении его водой в соотношении 1:1). При выявлении бактериофагов применяли культуры лактококков с низким индексом фагоустойчивости (менее 50 % к коллекционным фагам). Отбор проб и их подготовку к микробиологическим исследованиям проводили по ГОСТ 26809.1-2014. При генетических исследованиях культуры штаммов *Lactococcus lactis* выращивали в среде М17, содержащей 1 % агара, при температуре +30 °С. Для получения препаратов геномной ДНК штаммов *L. lactis* 2 см³ жидкой среды М17 инокулировали отдельными колониями и инкубировали в течение 12 ч при +30 °С; препараты геномной ДНК выделены из полученных жидких культур с помощью набора для выделения геномной ДНК GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу производителя для грам-положительных бактерий. Для получения отдельных бляшек 100 мкл жидкой культуры *L. lactis* и 10 мкл последовательных разведений препаратов бактериофагов добавлялись в 10 см³ расплавленной полужидкой среды М17, содержащей 0,5 % агара и 10 мМ хлорида кальция; смесь выливали на чашку с застывшей твердой агаризованной средой М17 (1 % агара); после окончательного застывания чашки инкубировались в течение 12 ч при +30 °С. Для получения лизатов бактериофагов культуры *L. lactis* разбавляли жидкой средой М17 с добавлением 10 мМ хлорида кальция в соотношении 1:100 и инкубировали при +30 °С до достижения оптической плотности 0,15–0,20 (длина волны 600 нм); в 10 см³ полученной жидкой культуры переносились отдельные фаговые бляшки, далее культуры инкубировались при +30 °С до достижения полного лизиса. Для определения титров полученных фаговых лизатов 10 мкл последовательных разведений наносились на поверхность полужидкой агаризованной среды М17 (0,5 % агара, 10 мМ хлорида кальция);

чашки инкубировали при +30 °С в течение 12 ч, далее производился подсчет образованных бляшек. Для выделения препаратов геномной ДНК бактериофагов 0,5 см³ фагового лизата с титром > 10⁸ БОЕ/см³ инкубировали с 10 мкл РНКазы А (10 мг/см³, Биоллабмикс, Россия) и термолабильной ДНКазой (Биоллабмикс) при +30 °С в течение часа. Затем добавлялся буфер для лизиса (Трис, pH 8,0 до 10 mM, ЭДТА, pH 8,0 до 1 mM, додецилсульфат натрия до 0,5 %) и 10 мкл протеиназы К (Биоллабмикс); смесь инкубировали при +56 °С в течение часа. К смеси добавляли 0,5 см³ фенола, насыщенного буфером (Трис; pH 8,0; 10 mM; ЭДТА; pH 8,0; 1 mM), смесь инкубировали при +60 °С в течение часа с периодическим перемешиванием. Водную фазу отделяли центрифугированием. Для осаждения ДНК к водной фазе добавляли 1/10 объема 3M раствора ацетата натрия (pH 5,2) и 3 объема изопропилового спирта; осадок ДНК отделяли центрифугированием при +4 °С. Библиотеки для высокопроизводительного секвенирования приготовлены с использованием набора MGIEasy FS PCR-Free DNA Library Prep Set (MGI Tech, Китай) в соответствии с инструкциями производителя. Секвенирование парными прочтениями (150 + 150) выполняли на платформе MGI DNBSEQ-G400.

Качество полученных прочтений анализировалось fastqc, тримминг адаптеров / фильтрация по качеству с применением программы fastp [10]. Для сборки геномных последовательностей *de novo* использовали пайплайн shovill. Для аннотации бактериальных геномов – инструмент prokka [11], для предсказания защитных систем у бактерий – базу данных веб-сервиса PADLOC [9]. Для аннотации фаговых геномов – инструмент phagokka [12]. Аминокислотные последовательности предсказанных рамок считывания выравнивали с использованием программы blastp, для визуализации – пакет ruGenomeViz. В ходе проведенных

исследований были собраны полные фаговые геномы, содержащие прямые концевые повторы.

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным критерием Тьюки ($p < 0,05$) для сравнения средних значений в выборках и оценки значимости различий. Результаты представлены в виде среднего значения ± стандартного отклонения ($M \pm m$).

Достоверность результатов исследований подтверждена 3–5-кратной повторностью проведения экспериментов с последующей статистической обработкой массива данных с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и теста Тьюки в среде анализа данных RStudio.

Результаты и их обсуждение

Информация о действии бактериофагов по сезонам года, поступающая от молочных предприятий, различается: одни отмечают наиболее активное действие бактериофагов в зимний и весенний периоды года, другие – в течение всех сезонов года. В этой связи на первом этапе работы определяли количество бактериофагов и бактериальную обсемененность молочного сырья по сезонам года. Отбор сырья проводили прежде всего на предприятиях с более активным проявлением бактериофагии. Критерием для выбора предприятий, на которых осуществлялся отбор образцов, была ситуация фаголизиса (с торможением или с полной остановкой процесса ферментации) в разные сезоны года. Большая доля исследованных проб (75 %) приходилась на образцы сырого молочного сырья и 25 % – на пробы сухого цельного и обезжиренного молока, полученных на отечественных предприятиях. Результаты исследований представлены на рисунке 1.

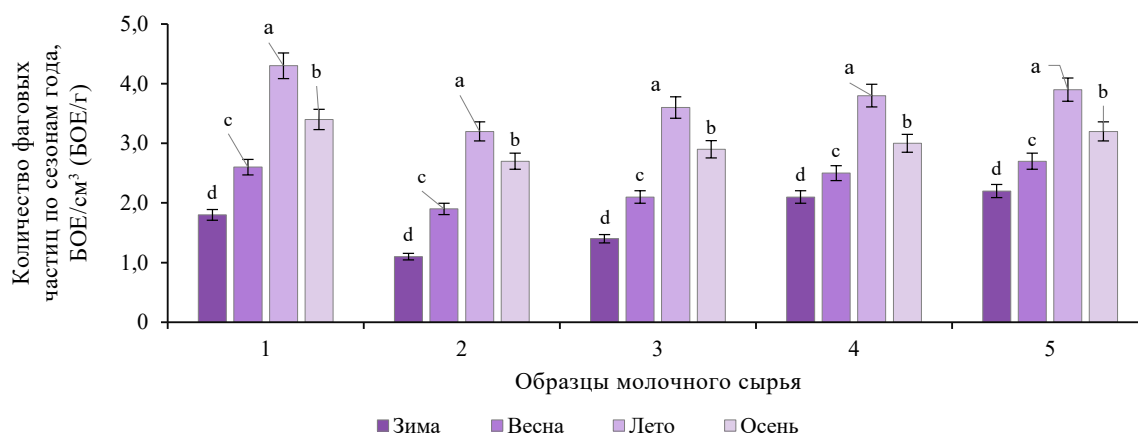


Рисунок 1. Изменение количества фаговых частиц в молочном сырье по сезонам года: 1 – сырое молоко; 2 – сырые сливки; 3 – сырое обезжиренное молоко; 4 – сухое обезжиренное молоко; 5 – сухое цельное молоко (разные буквы указывают на статистически значимые различия, ANOVA с апостериорным критерием Тьюки, $p < 0,05$)

Figure 1. Seasonal phage particle counts across dairy samples: 1 – raw milk; 2 – raw cream; 3 – raw skim milk; 4 – skim milk powder; 5 – whole milk powder. Different letters indicate statistically significant differences (ANOVA + Tukey's post hoc test, $p < 0.05$)

Количество фаговых частиц (титр бактериофагов), выражаемое в бляшкообразующих единицах (БОЕ) в 1 см³ жидкого сырья или 1 г сухого цельного и обезжиренного молока, заметно отличалось не только по видам сырья, но и по сезонам года. В сыром молоке количество фаговых частиц изменялось в зависимости от сезона: зимой в среднем составляло $1,8 \pm 0,2$ лг БОЕ/см³; летом – $3,6 \pm 0,4$ лг БОЕ/см³; осенью – $2,2 \pm 0,1$ лг БОЕ/см³; весной – $2,9 \pm 0,3$ лг БОЕ/см³. Такая же тенденция отмечалась в сырых сливках, в сыром и сухом обезжиренном молоке. По-видимому, это связано с изменением состава молочного сырья, который летом наиболее полноценный. Осенью и весной состав изменяется в течение перехода кормления коров преимущественно от зеленых к сухим кормам. Количество проб молока, получаемого от крупного рогатого скота, содержащегося стойловым способом, составляло не более 10 %. Наиболее полноценный состав молока отмечается в летний период (при условии свободного содержания животных). Именно в молочном сырье летнего периода наблюдали более интенсивное развитие различных групп микроорганизмов, включая дикие расы молочнокислых бактерий, и выявляли большее количество бактериофагов, лизирующих лактококки.

Бактериофаги – это паразиты, которые развиваются в клетках-хозяевах микроорганизмов. Рябцева и соавторы считают, что там, где присутствуют молочнокислые бактерии, развиваются и гомологичные к ним бактериофаги [13]. Бактериальная обсемененность молочного сырья является одним из важнейших показателей безопасности, который регламентируется в ТР ТС 033/2013, а также в ГОСТах на молочное сырье. Именно поэтому бактериальную обсемененность молочного сырья по сезонам года определяли в тех же пробах, в которых контролировали количество

бактериофагов. Результаты проведенных исследований представлены на рисунке 2.

Проведенный статистический анализ полученных результатов подтвердил гипотезу о сезонной динамике фагоустойчивости штаммов молочнокислых бактерий, применяемых в составе заквасок. Результаты подчеркивают необходимость учета сезонности при разработке фагопрофилактических схем.

Также выявлено, что в летний период наблюдается увеличение бактериальной обсемененности в исследованных пробах молочного сырья. Сравнивая и анализируя изменение количества фаговых частиц и общего микробного числа в исследуемых пробах молочного сырья, можно заключить, что с увеличением бактериальной обсемененности возрастает и количество выявленных фаговых частиц. В этой связи такие технологические приемы, как бактофугирование и очистка, снижают не только бактериальную обсемененность, но и количество фаговых частиц в исходном молочном сырье.

Следующей критической контрольной точкой, т. е. возможным риском, является тепловая обработка молочного сырья. Ранее проводили исследования по изучению влияния режимов тепловой обработки, применяемых в технологии молочной продукции, на количество фаговых частиц, содержащихся в молочном сырье [14]. В исследовании сообщается о применении следующих режимов тепловой обработки: 63–65 °C в течение 30 мин (режим термизации); 70–72 °C, 20 с и 78–80 °C, 20 с (режимы низкотемпературной пастеризации); 85–87 °C, 20 мин и 94–96 °C, 7 мин (режимы высокотемпературной пастеризации); 95–97 °C, 3 ч (режим, применяемый при томлении молока).

Количество фаговых частиц снижалось по мере увеличения температуры и продолжительности обра-

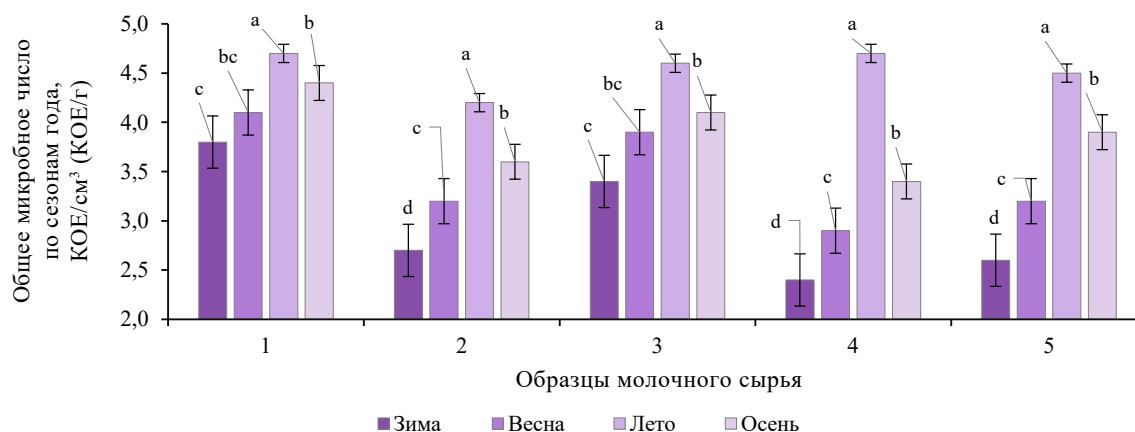


Рисунок 2. Общее микробное количество в молочном сырье по сезонам года: 1 – сырое молоко; 2 – сырые сливки; 3 – сырое обезжиренное молоко; 4 – сухое обезжиренное молоко; 5 – сухое цельное молоко (разные буквы указывают на статистически значимые различия, ANOVA с апостериорным критерием Тьюки, $p < 0,05$)

Figure 2. Seasonal total microbial counts across dairy samples: 1 – raw milk; 2 – raw cream; 3 – raw skim milk; 4 – skim milk powder; 5 – whole milk powder. Different letters indicate statistically significant differences (ANOVA + Tukey's post hoc test, $p < 0.05$)

ботки изученных образцов молочного сырья, содержащего бактериофаги. Выявлены отличия в термоустойчивости изученных коллекционных фагов, способных лизировать молочнокислые бактерии разных таксономических групп. Наибольшую термоустойчивость проявляли фаги, лизирующие термофильные молочнокислые стрептококки, наименьшую – фаги, лизирующие молочнокислые бактерии рода *Lactococcus* ssp., а фаги, лизирующие термофильные молочнокислые палочки, занимали промежуточное место. Одновременно отмечали небольшую разницу по термоустойчивости между фагами, лизирующими один род молочнокислых бактерий. В работе отмечается снижение количества фаговых частиц в образцах молочного сырья после тепловой обработки, однако при типовых промышленных режимах пастеризации в сырье сохраняется от сотен до тысяч фаговых частиц. Эти данные согласуются с результатами, представленными в других научных источниках [15]. Режим, который используется при томлении молочного сырья в технологии ряженки, не обеспечивал полную гибель изученных коллекционных бактериофагов. Так, результаты свидетельствуют о сохранении остаточного количества бактериофагов в молочном сырье после его тепловой обработки. Это позволило заключить, что дальнейшие процессы производства ферментированных видов молочной продукции протекают в условиях фаговой инфекции и могут создавать риски в получении качественной и безопасной продукции.

Дальнейшая направленность процессов сквашивания в технологии кисломолочной продукции, а также при получении, обработке сгустка и созревании сыров во многом определяется фагоустойчивостью применяемых заквасок [16]. Для многих групп молочной продукции используют мезофильные виды молочнокислых бактерий, а именно *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*. В этой связи интересно изучить изменение индекса фагоустойчивости по сезонам разных видов мезофильных лактококков. В таблице 1 приведены данные по изменению индекса фагоустойчивости штаммов *L. lactis* subsp. *lactis* по сезонам года.

У изученных штаммов *L. lactis* subsp. *lactis* наблюдались существенные изменения в индексе фагоустойчивости. Весна является наиболее неблагоприятным сезоном для них, когда количество фагочувствительных культур увеличивается до 85,6 %, а фагоустойчивых – уменьшается до 14,4 %.

Результаты изучения индекса фагоустойчивости у штаммов ароматообразующих бактерий по сезонам года приведены в таблице 2.

Наименьшую фагоустойчивость штаммы ароматообразующих молочнокислых бактерий имели в зимне-весенний период, возможно потому, что в этот период в молочном сырье содержится меньшее количество лимоннокислых солей, способствующих их развитию.

В таблице 3 представлены результаты изучения изменения индекса фагоустойчивости штаммов *L. lactis* subsp. *cremoris* по сезонам года.

L. lactis subsp. *cremoris* проявил наибольшую устойчивость к действию бактериофагов по сравнению с другими мезофильными молочнокислыми бактериями. Штаммы *L. lactis* subsp. *cremoris* показали наименьшую устойчивость к фагам в весенний период года. Тем не менее, изученные штаммы по данному свойству значительно отличались друг от друга.

Результаты проведенных исследований указывают на изменения свойств культур лактококков по сезонам. Это обуславливает необходимость проведения

Таблица 1. Изменение индекса фагоустойчивости штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* по сезонам года

Table 1. Seasonal phage resistance in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

Время года	Количество культур, имеющих индекс фагоустойчивости, % ($p \leq 0,05$)			
	90–98	0–10	11–50	51–89
Лето	22,80 ± 1,13	48,70 ± 2,32	17,10 ± 0,89	11,40 ± 0,54
Осень	20,00 ± 0,09	42,80 ± 2,26	22,80 ± 0,92	14,40 ± 0,05
Зима	17,10 ± 0,07	31,05 ± 1,61	25,70 ± 1,28	25,70 ± 1,25
Весна	14,40 ± 0,04	40,00 ± 1,85	28,50 ± 1,43	17,10 ± 0,08

Таблица 2. Изменение индекса фагоустойчивости штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* по сезонам года

Table 2. Seasonal phage resistance in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*

Время года	Количество штаммов, имеющих индекс фагоустойчивости, % ($p \leq 0,05$)			
	90–98	0–10	11–50	51–89
Лето	25,00 ± 1,26	33,30 ± 1,65	25,00 ± 1,25	16,70 ± 1,26
Осень	16,70 ± 0,08	50,00 ± 2,60	25,00 ± 1,26	8,30 ± 0,02
Зима	8,30 ± 0,03	58,30 ± 2,65	33,40 ± 1,64	0
Весна	8,30 ± 0,04	41,20 ± 2,40	50,00 ± 2,48	0

Таблица 3. Изменение индекса фагоустойчивости штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* по сезонам годаTable 3. Seasonal phage resistance in *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*

Время года	Количество штаммов, имеющих индекс фагоустойчивости, % ($p \leq 0,05$)			
	90–98	0–10	11–50	51–89
Лето	$28,60 \pm 1,36$	$19,00 \pm 0,08$	$28,60 \pm 1,40$	$23,80 \pm 1,26$
Осень	$23,80 \pm 1,28$	$28,60 \pm 1,20$	$28,60 \pm 1,38$	$19,00 \pm 1,10$
Зима	$19,00 \pm 1,10$	$33,40 \pm 1,63$	$28,60 \pm 1,35$	$19,00 \pm 1,10$
Весна	$14,30 \pm 0,05$	$38,00 \pm 1,85$	$33,40 \pm 1,64$	$14,30 \pm 0,06$

дальнейших более глубоких исследований по установлению причин изменчивости свойств у мезофильных молочнокислых бактерий и бактериофагов, приводящих к лизису штаммов, а также повышения фагоустойчивости заквасок путем включения в их состав фагоальтернативных штаммов лактококков, имеющих разные системы защиты от действия бактериофагов.

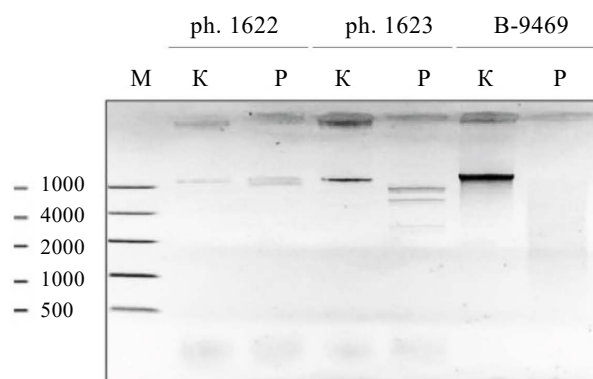
Для профилактики активного развития бактериофагов при получении кисломолочной продукции и сыров производители заквасок стремятся включать в их состав штаммы микроорганизмов не только разных родов (например, мезофильные лактококки и термофильные молочнокислые стрептококки), но и фагоальтернативные. Однако, как показывают результаты отечественных и зарубежных исследований, бактериофаги обладают высокой вариабельностью, адаптируются к новым условиям и начинают лизировать даже те штаммы заквасок, которые ранее имели высокий индекс фагоустойчивости. Таким образом, бактериофаги постоянно эволюционируют для того, чтобы преодолеть механизмы иммунитета устойчивых к фагам штаммов [17–19].

Данные указывают на необходимость при создании заквасок не только использовать имеющуюся коллекцию фагов, циркулирующих на молочных предприятиях, но и пополнять ее бактериофагами, постоянно выявляемыми на конкретном предприятии и при выработке определенного вида продукции. В исследовании Ганиной, посвященном определению критического количества бактериофагов, приводящего к выработке некачественной молочной продукции, утверждается, что титр бактериофагов может достигать сотни тысяч и миллионы бляшкообразующих единиц в 1 см^3 [20]. Эта информация также подтверждает высокую способность бактериофагов к изменению свойств, приспособлению к новым условиям и усилению фаголиза заквасочной микрофлоры.

Опираясь на вышеизложенное, можно убедиться в необходимости регулярного мониторинга бактериофагов на предприятиях, выделения бактериофагов, сравнения их с ранее выделенными, пополнения коллекции с целью отбора штаммов с высоким индексом фагоустойчивости и создания фагоальтернативных заквасок. В связи с этим нами проведены исследования по изучению двух бактериофагов, выделенных в последнее время из образцов молочной сыворотки,

полученной в технологии творога, вырабатываемого кислотным способом с применением мезофильной закваски. При производстве творога на данном предприятии наблюдали замедление процесса сквашивания. Выявление бактериофагов из образцов молочной творожной сыворотки осуществляли на питательной среде М17 с использованием линейки штаммов лактококков, шесть из которых депонированы в Биоресурсном центре «Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов» (БРЦ ВКПМ) как фагочувствительные культуры *L. lactis* subsp. *lactis*. Культура, проявляющая наибольшую чувствительность к коллекционным бактериофагам, была депонирована в БРЦ ВКПМ под номером В-9469. В ходе проведенной работы выделили несколько бактериофагов. У фагов ph. 1622 и ph. 1623, наиболее активных в отношении изученных штаммов, выделили ДНК и провели ее рестрикционный анализ (рис. 3).

Геномную ДНК штамма В-9469 использовали в качестве контроля чистоты фаговой ДНК. ДНК фагов ph. 1622 и ph. 1623 характеризуются разным паттерном рестрикции, что говорит о принадлежности к разным видам бактериофагов. В дальнейшем различие



М – маркер FastRuler High-Range DNA ladder;
 К – контроль – ДНК без добавления рестриктаз;
 Р – рестрикционная смесь – ДНК, обработанная смесью рестриктаз (EcoRI, Eco32I, HindIII, SalI в FD Green buffer, по 0,5 мкл каждой, 20 мин 37 °C)

Рисунок 3. Результаты рестрикционного анализа ДНК фагов ph. 1622 и ph. 1623

Figure 3. DNA restriction analysis: phages ph. 1622 and ph. 1623

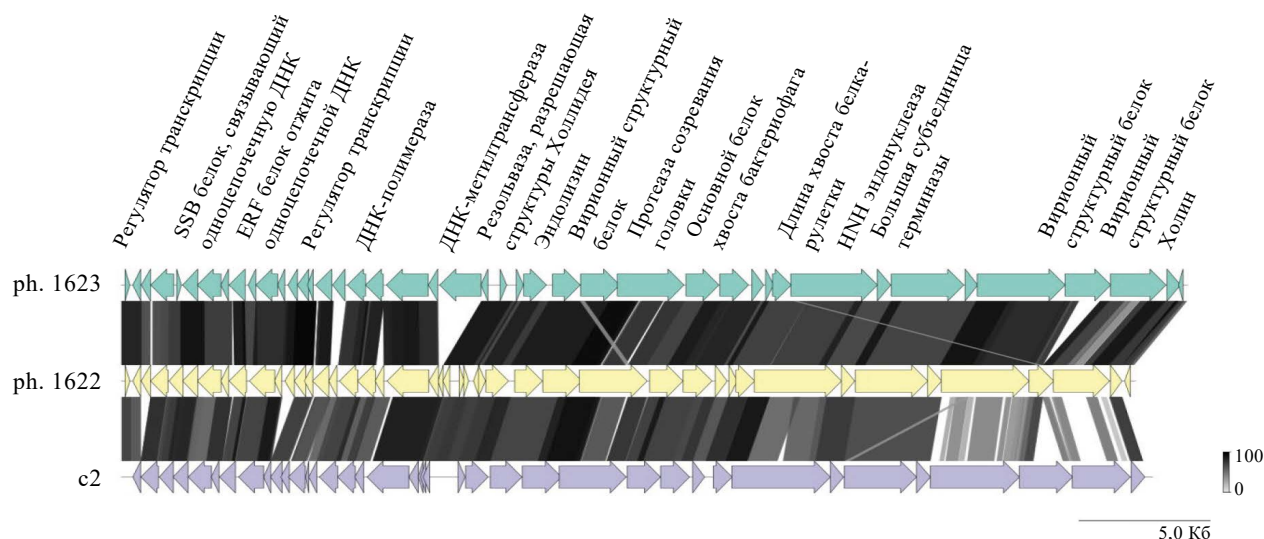


Рисунок 4. Выравнивание геномов бактериофагов ph. 1623, ph. 1622 и c2

Figure 4. Genome alignment: phages ph. 1623, ph. 1622, and c2

между этими бактериофагами было подтверждено высокопроизводительным секвенированием препаратов геномных ДНК, сборкой и выравниванием аминокислотных последовательностей предсказанных открытых рамок считывания. Качество прочтений анализировалось fastqc, тримминг адаптеров / фильтрация по качеству – программой fastp [10]. Для сборки геномных последовательностей *de novo* использовали пайплайн shovill. Для аннотации бактериальных геномов использовали метод, изложенный в работе [11], для предсказания защитных систем у бактерий – базу данных веб-сервиса PADLOC [9]. Для аннотации фаговых геномов использовали метод, изложенный в статье [12], для визуализации – пакет ruGenomeViz. В ходе проведенных исследований были собраны полные фаговые геномы, содержащие прямые концевые повторы. Для последующих работ по созданию панелей фагоальтернативных штаммов нуклеотидные последовательности фагов ph. 1622 и ph. 1623, выделенных из промышленных образцов, определили методами высокопроизводительного секвенирования. В ходе анализа геномных последовательностей бактериофагов ph. 1622 и ph. 1623 предсказаны локусы, которые потенциально могут определять специфичность бактериофагов к различным штаммам *L. lactis*.

Геномы бактериофагов ph. 1622 и ph. 1623 похожи друг на друга (сходство нуклеотидных последовательностей геномов > 90 %). Сравнение геномов бактериофагов ph. 1622 и ph. 1623 выявило сходство с ранее изученным бактериофагом c2, заражающим клетки *L. lactis* [21]. Выравнивание аминокислотных последовательностей, кодируемых фагами ph. 1622 и ph. 1623, выявило несколько вставок, кодирующих открытые рамки считывания, которые присутствуют только в одном из фаговых геномов. Ранее демонстрировалось,

Таблица 4. Защитные системы, идентифицированные в геноме штамма *Lactococcus lactis* B-9469

Table 4. Defense systems in *Lactococcus lactis* B-9469

Порядковый номер системы	Название защитной системы
1	RosmerTA
2	PD-T4-6
3	viperin_solo
4	RM_type_I
5	AbiH
6	AbiO-Nhi_family
7	PDC-S04
8	RM_type_I

что такие вставки у фагов могут кодировать компоненты, которые используются для подавления иммунных систем бактерий [22, 23]. Одна из вставок в геноме фага ph. 1623 кодирует орфанную ДНК-метилтрансферазу (рис. 4).

Орфанные метилтрансферазы, кодируемые бактериофагами, позволяют бактериофагам избегать иммунного ответа, опосредованного клеточными системами рестрикции-модификации. Предположительно, бактериофаг ph. 1623 может обладать устойчивостью к воздействию некоторых систем рестрикции-модификации, кодируемых *L. lactis*.

Геном фагочувствительного штамма *L. lactis* B-9469 отсекарован короткими парными прочтениями и собран до уровня контигов. С помощью сервиса PADLOC в геноме *L. lactis* B-9469 идентифицировали локусы, кодирующие бактериальные защитные системы (табл. 4).

В геноме штамма *L. lactis* B-9469 предсказали шесть систем, которые могут защищать клетки от воздей-

ствия бактериофагов. В частности, этот штамм кодирует две системы рестрикции-модификации I типа. Системы рестрикции-модификации позволяют клеткам уничтожать чужеродные молекулы ДНК, не содержащие модифицированные нуклеотиды в контексте определенных коротких последовательностей, при этом такие последовательности могут сильно варьироваться между разными системами рестрикции-модификации. Бактериофаги используют различные механизмы для обхода систем рестрикции-модификации: в их геномах могут отсутствовать сайты, распознаваемые этими системами, фаги способны экспрессировать специальные белки, подавляющие иммунный ответ, опосредуемый системами рестрикции-модификации, либо иметь свои собственные системы модификации ДНК (такие как орфанные метилтрансферазы). Поскольку на текущий момент специфичность систем рестрикции-модификации штамма *L. lactis* B-9469 неизвестна, механизмы устойчивости фагов ph. 1622 и ph. 1623 к этим системам требуют дополнительного изучения. Роль орфанной метилтрансферазы в жизненном цикле фага ph. 1623 неясна. Однако, в связи с тем, что близкородственный фаг ph. 1622, не кодирующий орфанных метилтрансфераз, также способен заражать штамм *L. lactis* B-9469, можно предположить, что орфанная метилтрансфераза фага ph. 1623 необходима для обхода систем рестрикции-модификации, кодируемых другими штаммами *L. lactis*.

Согласно исследованию, RosmerTA представляет собой abortивную систему инфекции, вызывающую деполаризацию клеточной мембраны при фаговой инфекции, однако системы RosmerTA, кодируемые клетками *L. lactis*, не исследовались, в частности, неизвестны триггеры, вызывающие активацию этих систем. Показана защитная функция систем PD-T4-6 для гомологов, кодируемых клетками *Escherichia coli*, однако молекулярные механизмы этих систем и их триггеры на текущий момент неизвестны; активности систем PD-T4-6 в клетках *L. lactis* не исследовались. Защитные локусы *viperin_solo* кодируют ферменты, синтезирующие разнообразные модифицированные нуклеотиды, ингибирующие вирусные транскрипцию и / или репликацию; сведений об активности гомологов этих ферментов, кодируемых *L. lactis*, на текущий момент не имеется. Локусы *AbiN* и *AbiO-Nhi_family* кодируют предсказанные системы abortивной инфекции, но их молекулярные механизмы остаются неисследованными. Локусы *PDC-S04* не были охарактеризованы экспериментально, их ассоциация с известными защитными системами позволяет предположить, что они также способны подавлять инфекцию фагами [9].

В связи с тем, что для большинства защитных систем, предсказанных в штамме *L. lactis* B-9469, неизвестны молекулярные механизмы и фаговые компоненты, активирующие эти системы, предсказать спектр фагочувствительности этого штамма затруднительно. Накопление фаговой коллекции, скрининг коллек-

ции штаммов против фагов, секвенирование и анализ фаговых и клеточных геномов позволит определить детерминанты устойчивости клеток к различным бактериофагам.

Выводы

Комплекс проведенных исследований подтвердил сложность проблемы бактериофагии и необходимость ее учета в управлении рисками при производстве ферментированных видов молочной продукции. К сложным факторам, влияющим на микробиологическую безопасность вырабатываемой продукции, следует относить сезонные изменения количества бактериофагов, содержащихся в молочном сырье. Эти изменения взаимосвязаны с общим микробным числом в сырье, с исходным титром фагов перед началом процессов ферментации, а также с сезонной изменчивостью штаммов, входящих в состав заквасок. Проведенный статистический анализ полученных данных подтвердил гипотезу о сезонной динамике фагоустойчивости штаммов молочнокислых бактерий, применяемых в составе заквасок. Результаты подчеркивают необходимость учета сезонности при разработке фагопрофилактических схем.

Несмотря на включение в состав заквасок фагоальтернативных штаммов, необходимо постоянно осуществлять мониторинг, выделение и изучение изменчивости бактериофагов, способных лизировать молочнокислые бактерии. В фагах ph. 1622 и ph. 1623 имеется несколько вставок, кодирующих открытые рамки считывания, в частности, в геноме фага ph. 1623 определена вставка, кодирующая орфанную ДНК-метилтрансферазу, которая обеспечивает бактериофагам способность избегать иммунный ответ, опосредованного клеточными системами рестрикции-модификации. Результаты подтверждают необходимость проведения дальнейших исследований в данном направлении, чтобы осознанно включать в состав заквасок культуры лактококков с разными системами защиты от действия бактериофагов. Это позволит сделать шаг вперед в отборе отечественных фагоальтернативных культур и их введения в состав заквасок, что будет способствовать снижению рисков выработки некачественных ферментированных видов молочной продукции.

Применение современных подходов по определению детерминант устойчивости у молочнокислых бактерий к бактериофагам планируется применять на строящейся современной Угличской биофабрике (ООО «Угличская биофабрика»), что будет повышать фагоустойчивость работы заквасок в технологии молочной продукции и способствовать ее выработке с требуемыми показателями качества и безопасности.

Критерии авторства

В. И. Ганина – общее руководство проводимыми исследованиями, выявление бактериофагов в молочном сырье, определение титра бактериофагов и общего

микробного числа в сырье по сезонам года, анализ полученных результатов и формулирование выводов, написание рукописи. М. А. Гришина – изучение отношения штаммов молочнокислых бактерий разных видов к коллекционным бактериофагам по сезонам года и анализ полученных данных. М. В. Колесник – подбор литературы по изучаемому вопросу, выделение и рестрикция ДНК бактериофагов, анализ полученных данных и формулирование выводов. А. К. Самолыго – полногеномное секвенирование препаратов геномных ДНК двух чувствительных штаммов лактококков и двух изучаемых фагов, биоинформатический анализ защитных систем, а также анализ полученных данных и формулирование выводов. И. Н. Мозговая – отбор образцов молочного сырья на предприятиях, анализ полученных результатов и формулирование выводов. И. И. ИONOVA – поиск научной литературы по изучаемой проблеме, подготовка питательных сред и образцов к исследованиям, обработка полученных результатов, построение диаграмм, анализ данных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы статьи выражают благодарность директору Д. В. Фурсаеву и коллективу ООО «Угличская биофабрика» за предоставленные штаммы молочнокислых бактерий и культуры бактериофагов.

Contribution

V.I. Ganina supervised the studies, detected the bacteriophages, determined their titer and total microbial count, analyzed the results, formulated the conclusions of the studies, and drafted the manuscript of the studies. M.A. Grishina studied the seasonal ratio of lactic acid bacteria strains across species and analyzed the data. M.V. Kolesnik wrote the review, performed the isolation and restriction of bacteriophage DNA, analyzed the data, and formulated the conclusions. A.K. Samolygo was responsible for the whole-genome sequencing of lactococci strains and phages, bioinformatics of defense systems, data analysis, and conclusions. I.N. Mozgovaya selected the samples, analyzed the results, and formulated the conclusions of the studies. I.I. Ionova wrote the review, prepared the nutrient media and samples, processed the results, plotted the diagrams, and also provided the analyses of the data.

Conflict of interest

The authors declared no potential conflict of interest regarding the research, authorship, and / or publication of this article.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to Uglich Biofabrika Ltd and Director D.V. Fursaev for providing the strains of lactic acid bacteria and bacteriophage cultures.

Список литературы / References

1. Ефимочкина Н. Р. Этиология и эпидемиологические аспекты наиболее значимых пищевых инфекций. Молочная промышленность. 2022. № 2. С. 30–33. [Efimochkina NR. Etiology and epidemiological aspects of the most significant foodborne infections. Dairy industry. 2022;(2):30–33. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/ZOQVMG>
2. Горощенко Л. Г. Ценовая конъюнктура на российском рынке молочной продукции в 2024 году: кисломолочные продукты, сметана. Молочная промышленность. 2024. № 5. С. 8–14. [Goroschenko LG. Russian dairy market 2024: Price environment for fermented dairy products and sour cream. Dairy industry. 2024;(5):8–14. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/FUNJVN>
3. Агеева Н. В., Кочетов В. А., Литвиненко Е. Ю. Практические решения по внедрению на предприятиях пищевой промышленности системы менеджмента безопасности пищевых продуктов. Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2020. № 2–3. С. 104–107. [Ageeva NV, Kochetov VK, Litvinenko EYu. Practical solutions for implementation on enterprises of the food industry of the system food safety management. Izvestiya Vuzov. Food Technology. 2020;(2–3):104–107. (In Russ.)] <https://doi.org/10.26297/0579-3009.2020.2-3.27>
4. García-Anaya MC, Sepulveda DR, Sáenz-Mendoza AI, Rios-Velasco C, Zamudio-Flores PB, *et al.* Phages as biocontrol agents in dairy products. Trends in Food Science and Technology. 2020;95:10–20. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.10.006>
5. Сорокина Н. П., Кучеренко И. В., Кураева Е. В., Кушнаренко Л. В. Современные проблемы бактериофагии. Молочная промышленность. 2019. № 2. С. 32–34. [Sorokina NP, Kucherenko IV, Kuraeva EV, Kushnarenko LV. Up-to-date problems of the bacteria phages. Dairy industry. 2019;(2):32–34. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/YYGBMD>
6. Казак А. Н., Василенко С. Л., Фурик Н. Н. Изучение распространенности бактериофагов в ферментированных молочных продуктах. Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья. 2013. № 8. С. 117–129. [Kazak AN, Vasylenko SL, Furik NN. Investigation of bacteriophage prevalence in fermented milk products. Topical Issues of Processing of Meat and Milk Raw Materials. 2013;(8):117–129. (In Russ.)]
7. Ганина В. И., Машенцева Н. Г., ИONOVA И. И. Исследование бактериофагов, лизирующих молочнокислые бактерии. Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 2. С. 361–374. [Ganina VI, Mashentseva NG, Ionova II. Bacteriophages of lactic acid bacteria. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(2):361–374. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-2-2371>

8. Сорокина Н. П. О проблемах в заквасочном деле России. Молочная промышленность. 2022. № 4. С. 7–10. [Sorokina NP. On the problems in the sourdough business of Russia. Dairy industry. 2022;(4):7–10. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/NLQEOJ>
9. Payne LJ, Meaden S, Mestre MR, Palmer C, Toro N, et al. PADLOC: A web server for the identification of antiviral defence systems in microbial genomes. Nucleic acids research. 2022;50(W1):W541–W550.
10. Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J. fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. Bioinformatics. 2018;34(17):i884–i890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>
11. Seemann T. Prokka: Rapid prokaryotic genome annotation. Bioinformatics. 2014;30(14):2068–2069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>
12. Bouras R, Nepal G, Houtak G, Psaltis AJ, Wormald P-J, et al. Pharokka: A fast scalable bacteriophage annotation tool. Bioinformatics. 2023;39(1):btac776. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac776>
13. Рябцева С. А., Ганина В. И., Панова Н. М. Микробиология молока и молочных продуктов: учебное пособие для вузов. СПб: Лань; 2021. 192 с. [Ryabtseva SA, Ganina VI, Panova NM. Microbiology of milk and dairy products: A textbook for universities. Saint Petersburg: Lan'; 2021. 192 p. (In Russ.)]
14. Pujato SA, Quiberoni AD, Mercanti J. Bacteriophages on dairy foods. Journal of Applied Microbiology. 2019;126(1):14–30. <https://doi.org/10.1111/jam.14062>
15. Ганина В. И. Влияние температуры на выживаемость бактериофагов в биотехнологии кисломолочных продуктов. Молочная промышленность. 2020. № 3. С. 31–32. [Ganina VI. The temperature effect on the survival of bacteriophages in the biotechnology of fermented milk products. Dairy industry. 2020;(3):31–32. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-03-32-33>
16. Герасимович А. Д., Сидоренко А. В. Бактериофаги молочнокислых бактерий и их устойчивость к физико-химическим факторам. Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сборник науч. трудов. Минск, 2020. Т. 12. С. 40–58. [Gerasimovich AD, Sidorenko AV. Bacteriophages of lactic acid bacteria *Lactococcus lactis* and their resistance to physicochemical factors. Microbial biotechnology: Fundamental and applied aspects: Collection of Sci. papers. Minsk, 2020;12:40–58. (In Russ.)]
17. Грязнова М. В., Буракова И. Ю., Смирнова Ю. Д., Нестерова Е. Ю., Родионова Н. С. и др. Динамика изменения бактериального состава молочной основы в процессе ферментации. Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. № 3. С. 554–564. [Gryaznova MV, Burakova IYu, Smirnova YuD, Nesterova EYu, Rodionova NS, et al. Bacterial composition of dairy base during fermentation. Food Processing: Techniques and Technology. 2023;53(3):554–564. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-3-2456>
18. Lavelle K, Murphy J, Fitzgerald B, Lugli GA, Zomer A, et al. A decade of *Streptococcus thermophilus* phage evolution in an Irish dairy plant. Applied and Environmental Microbiology. 2018;84(10):e02855. <https://doi.org/10.1128/AEM.02855-17>
19. Лапшевич И. Как так? Бактериофаги – невидимый враг молочных продуктов. Сыроделие и маслоделие. 2021. № 3. С. 16–17. [Lapshevich I. How so? Bacteriophages – The invisible enemy of dairy products. Cheese- and Buttermaking. 2021;(3):16–17. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/CXKKRB>
20. Ганина В. И. Критически опасное количество фагов в биотехнологии кисломолочной продукции. Молочная промышленность. 2022. № 3. С. 13–15. [Ganina VI. Critically dangerous number of phages in the biotechnology of fermented milk products. Dairy industry. 2022;(3):13–15. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2022-03-13-15>
21. Jarvis AW, Lubbers MW, Waterfield NR, Collins LJ, Polzin KM. Sequencing and analysis of the genome of lactococcal phage c2. International Dairy Journal. 1995;5(8):963–976. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(95\)00040-2](https://doi.org/10.1016/0958-6946(95)00040-2)
22. Cumby N, Edwards AM, Davidson AR, Maxwell KL. The bacteriophage HK97 gp15 moron element encodes a novel superinfection exclusion protein. Journal of Bacteriology. 2012;194(18):5012–5019. <https://doi.org/10.1128/jb.00843-12>
23. Murphy J, Mahony J, Ainsworth S, Nauta A, van Sinderen D. Bacteriophage orphan DNA methyltransferases: Insights from their bacterial origin, function, and occurrence. Applied and Environmental Microbiology. 2013;79(24):7547–7555. <https://doi.org/10.1128/aem.02229-13>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2599>
<https://elibrary.ru/WJBUBW>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Роль коллагена в формировании микроструктуры и реологических свойств плавленого сыра



О. Н. Мусина*^{ID}, Е. М. Нагорных^{ID}

Алтайский государственный технический университет им. И. И. Ползунова^{ROR}, Барнаул, Россия

Поступила в редакцию: 31.05.2025

Принята после рецензирования: 04.07.2025

Принята к публикации: 05.08.2025

*О. Н. Мусина: musinaolga@gmail.com,

<https://orcid.org/0000-0002-4938-8136>

Е. М. Нагорных: <https://orcid.org/0000-0003-3051-1381>

© О. Н. Мусина, Е. М. Нагорных, 2025



Аннотация.

Гидролизированный коллаген может стать перспективным многофункциональным модификатором структуры плавленых сыров, обеспечивая формирование гибридной казеин-коллагеновой матрицы и коллоидную стабилизацию жировой эмульсии. Цель работы заключалась в установлении влияния включения гидролизованного коллагена в состав плавленого пастообразного сыра на его микроструктуру и реологические свойства.

Объект исследования – плавленый пастообразный сыр с добавлением 3,1 % гидролизованного коллагена. Для сравнения использовался контрольный образец без коллагена. Микроструктура оценивалась с помощью оптической микроскопии и анализа изображений в Fiji ImageJ2. Реологические свойства определялись на приборе фирмы «Реокон» с использованием ножевидного индентора.

Включение 3,1 % гидролизованного коллагена в рецептуру плавленых пастообразных сыров способствовало улучшению их структурно-механических свойств. Добавление гидролизованного коллагена приводило к уплотнению белковой матрицы и стабилизации жировой эмульсии, что проявлялось в уменьшении среднего размера жировых глобул с 26,5 до 14,8 мкм, отсутствии их коалесценции и кластеризации, снижении на 20 % пористости беловой матрицы и повышении однородности распределения водной фазы. Введение гидролизованного коллагена в рецептуру приводило к увеличению адгезии и вязкости плавленого сыра на 40 %, но не обеспечивало прочностных свойств, вязкие свойства преобладали над упругими, сыр сохранял пластичность.

Гидролизированный коллаген рекомендован к использованию в составе плавленых сыров, требующих высокой адгезии и пластичности (пастообразные сыры, сыры для соусов). Применение гидролизованного коллагена не рекомендуется для сыров, в которых важна высокая структурная прочность (ломтовые сыры, колбасный сыр). Полученные результаты открывают перспективы для дальнейшей оптимизации текстуры плавленых пастообразных сыров.

Ключевые слова. Плавленый сыр, пищевая система, белковая матрица, жировые глобулы, вязкость, адгезия, прочность, плавление, структурно-механические свойства

Для цитирования: Мусина О. Н., Нагорных Е. М. Роль коллагена в формировании микроструктуры и реологических свойств плавленого сыра. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 659–672. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2599>

Effect of Collagen on Microstructural and Rheological Properties of Cheese Spreads



Olga N. Musina*^{ORCID}, Elena M. Nagornyh^{ORCID}

Polzunov Altai State Technical University^{ORCID}, Barnaul, Russia

Received: 31.05.2025
Revised: 04.07.2025
Accepted: 05.08.2025

*Olga N. Musina: musinaolga@gmail.com,
<https://orcid.org/0000-0002-4938-8136>
Elena M. Nagornyh: <https://orcid.org/0000-0003-3051-1381>

© O.N. Musina, E.M. Nagornyh, 2025



Abstract.

Hydrolyzed collagen modifies the structure of cheese spreads: it develops a hybrid casein-collagen matrix and stabilizes the fat emulsion. This research featured the effect of hydrolyzed collagen on the microstructure and rheology of cheese spreads.

The study involved experimental cheese spread with 3.1% hydrolyzed collagen and a collagen-free control sample. The method of optical microscopy and image analysis (Fiji ImageJ2) made it possible to study the microstructure. The rheological profile was investigated on an experimental Reokon tensile strength tester with a knife indenter.

Hydrolyzed collagen improved the structural and mechanical properties of the finished product. As the protein matrix grew more compact and the fat emulsion became more stable, the average size of fat globules dropped from 26.5 to 14.8 μm without coagulating or clustering. In addition, the porosity of the protein matrix reduced by 20% while the aqueous phase distribution became more homogeneous. Hydrolyzed collagen improved the adhesion and viscosity properties of the experimental cheese spread by 40% but not its tensile strength. As a result, viscosity prevailed over elasticity, and the experimental cheese spread retained its plasticity.

Hydrolyzed collagen proved to be an effective component in the formulation of cheese spreads that require high adhesion and plasticity. However, it is likely to spoil the targeted structural properties of smoked or sliced cheeses. The results open up new prospects for further optimization of the texture of domestic cheese spreads.

Keywords. Cheese spread, food system, protein matrix, fat globules, viscosity, adhesion, tensile strength, melting, structural and mechanical properties

For citation: Musina ON, Nagornyh EM. Effect of Collagen on Microstructural and Rheological Properties of Cheese Spreads. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):659–672. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2599>

Введение

Плавленные сыры представляют собой сложные многокомпонентные системы, получаемые путем термической обработки сырья с добавлением солей-плавителей. Их уникальные свойства – пластичность, однородность и устойчивость к расслоению – обусловлены взаимодействием белковой матрицы, жировой фазы и водной среды [1, 2]. Акцент в пищевой промышленности сместился на разработку продуктов с улучшенными характеристиками, в том числе за счет использования новых видов сырья [3–6], не обошел этот тренд и плавленные сыры [7, 8]. Модификация рецептур плавленных сыров, направленная на достижение ожидаемых реологических свойств продукции, является актуальной научно-технической задачей, требующей глубокого понимания физико-химических взаимодействий между компонентами смеси для плавления [9, 10].

Микроструктура плавленных сыров формируется на основе казеиновой сети, стабильность которой

обеспечивается солями-плавителями, способствующими формированию гомогенного геля [11, 12]. Жировые глобулы, диспергированные в белковой матрице, влияют на текстуру: уменьшение их размера коррелирует с повышением гладкости и устойчивости эмульсии [13, 14]. Реологические свойства таких систем описываются моделями вязкоупругопластичного поведения, где ключевыми параметрами являются предел текучести, адгезия и вязкость [10, 15]. Размер жировых глобул в плавленом сыре важен для предотвращения коалесценции и улучшения стабильности продукта [16, 17]. Для пастообразных сыров одним из важных аспектов качества является отсутствие синерезиса (отделение влаги, вызванное неоднородностью белковой матрицы) [18, 19]. Современные исследования направлены на поиск ингредиентов, способных усиливать водосвязывающую способность продукта и моделировать его структуру. Так, использование полисахаридов, например каррагинанов, показало эффективность в моделировании реологических

свойств сыров, в том числе плавленых, однако их влияние на вкусовые характеристики продукции неоднозначно [20–22].

Одним из перспективных видов сырья, нового для технологии плавленых сыров, является гидролизированный коллаген (ГК). Гидролизированный коллаген, получаемый ферментативным или кислотным расщеплением нативного коллагена, обладает уникальными технологическими свойствами: высокой гидрофильностью, эмульгирующей способностью и совместимостью с белковыми системами [23, 24]. Его пептиды, богатые пролином и глицином, способны взаимодействовать с казеином, что открывает перспективы для совершенствования традиционных пищевых продуктов [25].

Современные работы демонстрируют большой потенциал гидролизованного коллагена в модификации пищевых систем. Например, da Mata Rigoto *et al.* [26] установили, что добавление гидролизованного коллагена в состав пробиотического молочного напитка позволяет повысить вязкость смеси в требуемых пределах за счет формирования белковой сети, продукт демонстрировал псевдопластичное поведение. В эмульсионных системах ГК действует как стабилизатор, снижая межфазное натяжение [27]. Это подтверждается данными исследования [28], где показано, что включение коллагеновых пептидов в майонез позволило снизить массовую долю жира в продукте до 40 % (против 67 % в традиционном майонезе) при одновременном увеличении стабильности эмульсии, адгезии и эластичности. Включение коллагена в состав мясных полуфабрикатов положительно влияет на их влагоудерживающую способность, что отражается на сенсорных свойствах продукта; коллагеновые пептиды могут быть перспективным ингредиентом для замены жира в рецептуре сосисок [29]. Добавление гидролизованного коллагена в мороженое повышает стабильность эмульсии, поэтому рекомендуется рассмотреть его использование в качестве заменителя жиров в составе этого продукта [30].

В контексте молочных продуктов важнейшим направлением исследований является установление влияния гидролизованного коллагена на реологические свойства продукции. Помимо улучшения текстуры и стабильности пищевых продуктов, ГК обладает значительной способностью связывать влагу (при некоторых видах обработки водосвязывающая способность коллагенсодержащего сырья достигает $22,20 \pm 0,31$ %), что может представлять интерес для контроля активности воды в сырах [31, 32].

При включении ГК в состав сметаны пептиды коллагена формируют сетчатые структуры между белками молока, образуя перемычки и включения жировых глобул, сметанный продукт характеризуется вязкопластическим течением и быстрой релаксацией [33]. Однако возможность применения гидролизованного коллагена в плавленых сырах практически не изучена.

Большинство исследований сосредоточено на жидких молочных продуктах, тогда как данные о влиянии ГК на казеиновые гели и жировую фазу сыров весьма ограничены.

Несмотря на растущий интерес к использованию новых, потенциально перспективных ингредиентов, в том числе коллагена, в традиционных молочных продуктах механизмы взаимодействия ГК с компонентами плавленых сыров остаются нераскрытыми. В частности, отсутствуют данные о том, как коллагеновые пептиды влияют на микроструктуру и реологические свойства плавленых сыров.

Проведенный обзор литературы показал, что гидролизированный коллаген обладает значительным потенциалом для модификации структуры пищевых систем. Тем не менее, его применение в плавленых сырах требует детального изучения, позволяющего в дальнейшем оптимизировать рецептуры и прогнозировать свойства продукции. Настоящее исследование вносит вклад в решение этого вопроса, предлагая новые данные о роли ГК в стабилизации эмульсий и укреплении белковых матриц.

Актуальность исследования отвечает также современному запросу на натуральность, когда потребитель ожидает видеть в составе продукта добавки, способные не только модифицировать микроструктуру и реологические свойства плавленых сыров, но и улучшить его состав. Использование гидролизованного коллагена соответствует трендам на продукты с добавленной ценностью, в частности за счет биоактивных пептидов коллагена, улучшающих здоровье кожи и суставов [34, 35].

Цель данной работы – установление влияния включения гидролизованного коллагена в состав плавленого пастообразного сыра на его микроструктуру и реологические свойства.

В рамках настоящего исследования проверялась гипотеза о том, что ГК, обладая гидрофильными и эмульгирующими свойствами, способен существенно модифицировать микроструктуру плавленого пастообразного сыра и изменять его реологические свойства за счет взаимодействия с казеиновыми мицеллами и жировыми глобулами. В отличие от исследований по коллагену в молочных напитках акцент сделан на вязкоупругие свойства системы, что актуально для категорий сыров с высокой пластичностью.

Для достижения цели исследования решались следующие задачи:

- оценить воздействие ГК на микроструктуру плавленого сыра (средний размер жировых глобул и его вариабельность, плотность белковой матрицы, однородность структуры сыра);
- оценить воздействие ГК на реологические характеристики плавленого сыра (вязкость, адгезия, прочность);
- предложить возможные механизмы выявленных закономерностей взаимодействия ГК с компонентами сырной смеси.

Объекты и методы исследования

Объект исследования – плавленый пастообразный сыр, обогащенный гидролизанным коллагеном (ГК).

Состав контрольного и опытного образцов сыра приведен в таблице 1. Диапазон дозировок внесения ГК был определен в предварительных экспериментах методом математического моделирования органолептических показателей, соответствующих контрольному образцу плавленого пастообразного сыра, и составил 3,0–3,5 %. Математическое моделирование проведено путем реализации полного факторного эксперимента с центральной, осевыми и дополнительными точками; тип модели – полиномиальная регрессия второй степени; значимость коэффициентов модели определена по *t*-тестам. Адекватность модели подтверждена тестами Шапиро-Уилка и Левена: 94 % изменчивости отклика объясняется моделью регрессии. Органолептические показатели образцов плавленого сыра оценены по ГОСТ 33630-2015.

Гидролизанный коллаген получен по ТУ 10.89.19-003-0160057957-2021 (ООО «СМТ-Групп», Россия). Образцы плавленых сыров вырабатывались на приборе Термомикс TM5 (Vorwerk International & Co. KmG, Швейцария) путем измельчения, смешивания и плавления подготовленного сырья с использованием солей-плавителей. Соли-плавители подобраны с учетом получения пластичной консистенции в плавленом сыре и активной кислотности от 6,20 до 5,80: выбор ортофосфата натрия осуществляли по ГОСТу 31725-2012; пирофосфат натрия – ГОСТ Р 55054-2012; трифосфат натрия – ГОСТ 31638-2012; полифосфат натрия согласно ГОСТу 31686-2012.

При исследовании микроструктуры образцов плавленого сыра задействованы две модели микроскопов. Исследования проводились в проходящем свете согласно методу светлого поля. Для получения микро-

фотографий с увеличением до 1270х использовали микроскоп Микромед-1, вариант 2-20 (Ningbo Sheng Heng Optics & Electronics Ltd., Китай) с бинокулярной визуальной насадкой того же производителя. Визуальная насадка микроскопа работала совместно с камерой (видеоокуляром) ToupCam UCMOS0 3100KPA (ToupTek Photonics Co., Ltd, Китай), адаптером-переходником ToupTek FMA050 0.50X (ToupTek Photonics Co., Ltd, Китай), 15’’ монитором LG FLATRON L1510S (LG Electronics, Южная Корея) и программным обеспечением ToupView (ToupTek Photonics Co., Ltd, Китай). Для получения микрофотографий с увеличением до 3384х использовали микроскоп Альтами БИО 1 (ООО «Альтами», Россия) с видеокамерой Альтами UCMOS05100KPA-U-NA-N-C-SQ-NA (ООО «Альтами», Россия), адаптером-переходником 0.5-C/23 0.50X (ООО «Альтами», Россия), 19’’ монитором SAMSUNG S19C200 (Samsung Group, Южная Корея) и программным обеспечением Altami Studio (ООО «Альтами», Россия).

Для приготовления микроскопического препарата образцы пастообразного плавленого сыра наносились тонким слоем на предметные стекла, далее наносили водный раствор метиленового синего, затем накрывали образец покровным стеклом. При использовании метода оптической микроскопии глубина резкости ограничена, поэтому для каждого образца анализировались 5 случайно выбранных полей зрения на каждом увеличении, чтобы избежать ошибок из-за локальной неоднородности. Перед проведением микроскопии образцы хранились при 4 ± 1 °C не более 2 дней после изготовления.

Для инструментального анализа данных, полученных с микроскопов, использовали пакет обработки изображений Fiji ImageJ2, с помощью которого производили оценку размеров жировых глобул в образцах

Таблица 1. Рецепт плавленого пастообразного сыра (на тонну)

Table 1. Formulation for processed cheese spread (1 ton)

Наименование сырья	Масса, кг	
	Контрольный образец	Опытный образец
Сыр сычужный полутвердый с массовой долей сухого вещества 56 %, жира в сухом веществе 45 %	360,1	329,1
Творог с массовой долей сухого вещества 25 %, жира 5 %	102,0	102,0
Масло крестьянское сладко-сливочное с массовой долей сухого вещества 75 %, жира 72,5 %	284,1	284,1
Сливки с массовой долей сухого вещества 41 %, жира 35 %	61,2	61,2
Сухое обезжиренное молоко с массовой долей сухого вещества 96 %	21,8	21,8
Соль пищевая	1,0	1,0
Соль-плавитель	20,4	20,4
Лимонная кислота	1,0	1,0
Гидролизанный коллаген	0	31,0
Вода питьевая	168,4	168,4
Всего	1020,0	1020,0
Выход	1000,0	1000,0

плавленого сыра и строили гистограммы распределения. Измерения жировых глобул проводились с шагом 50 мкм по сетке 3×3 в центре поле зрения, при измерении исключались краевые эффекты. Для детектирования контуров глобул использовались возможности Fiji ImageJ2 (пороговое значение яркости > 200 на шкале 0–255).

Оценку однородности белковой матрицы в образцах плавленого сыра осуществляли с помощью инструмента Interactive 3D Surface Plot пакета Fiji ImageJ2, позволяющего создать из двухмерных микрофотографий образцов 3d-график поверхности, где каждая точка имеет координаты x, y (как и в 2D-изображении), а z – отражает яркость точки на исходной 2D-фотографии (интерпретируется как высота для графика). Инструмент поддерживает в том числе непрямоугольные выборки. Непрямоугольное изображение масштабировалось до квадратного с использованием выборки методом *k*-ближайших соседей (*k*-nearest neighbors). Поверхности строились на основе преобразования Фурье.

Исследование реологических свойств образцов сыра проведено в «Сибирском НИИ сыроделия» на приборе фирмы «Реокон» (Россия), разработанном профессором А. А. Майоровым, по утвержденной методике. Принцип действия прибора основан на измерении предела прочности образца плавленого сыра при погружении индентора. Детальное описание прибора фирмы «Реокон», его внешний вид и вид индентора приведены в исследовании [36]. Методика основана на измерении напряжения сдвига (усилия нагружения на инденторе, отражающего сопротивление деформации) при погружении индентора в образец плавленого сыра на заданную глубину при заданной скорости. Использован индентор ножевого типа, изготовленный из нержавеющей стали (лезвие 40×5 мм, угол наклона 90°), что обеспечивало контакт площадью 0,0002 м². Режим реологических исследований: глубина погружения индентора 0–50 мм, скорость погружения 10 мм/с, температура образцов и окружающей среды 20 ± 1 °С.

Результаты и их обсуждение

Микроструктура плавленных сыров характеризуется специфическими особенностями. Белковая матрица образует сетчатую структуру, жир распределен в виде капель. Равномерное распределение мелких жировых глобул в образце будет указывать на хорошую устойчивость эмульсии и стабильность продукта.

Для визуализации крупных структур сыра, таких как жировые глобулы и белковая матрица, хорошо подходит оптическая микроскопия. После проведения серии экспериментов получен массив данных. На рисунке 1 приведены образцы типичных микрофотографий сыра.

Благодаря низкой молекулярной массе короткие пептиды гидролизованного коллагена (ГК) легко взаи-

модействуют с другими компонентами сыра. В контрольном образце сыра (рис. 1а, с, е) белковая матрица имела видимые разрывы и неравномерности, периодически видны участки с низкой связностью. В образце плавленого сыра с коллагеном (рис. 1б, d, f) белковая матрица более плотная и непрерывная. Короткие пептиды гидролизованного коллагена могут встраиваться в структуру казеиновой матрицы, образуя дополнительные поперечные связи, что визуально отмечено как усиление сетчатой структуры белковой матрицы. В структуре опытного образца сыра отчетливо наблюдались более мелкие пустоты, по сравнению с контрольным образцом.

Жировые глобулы в контрольном образце (рис. 1а, с, е) крупные (12–97 мкм) и неравномерно распределены, отмечаются признаки коалесценции (крупные жировые капли сгруппированы в кластеры). В образце сыра с коллагеном (рис. 1б, d, f) жировые глобулы мельче (6–29 мкм) и равномерно распределены в белковой матрице, слипание капель жира единичное.

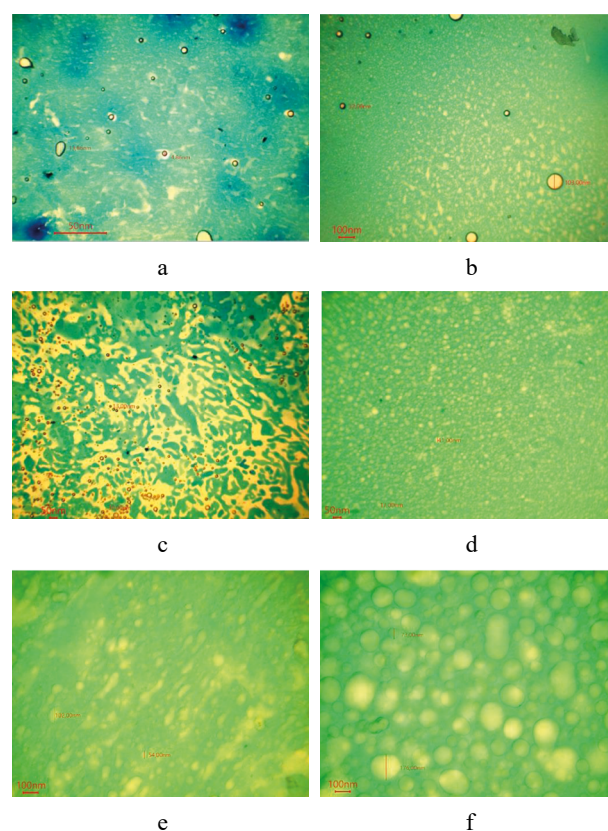


Рисунок 1. Плавленый сыр: а – без наполнителей (контроль) и б – с коллагеном (увеличение ×127); с – без наполнителей (контроль) и d – с коллагеном (увеличение ×318); е – без наполнителей (контроль) и f – с коллагеном (увеличение ×1,270)

Figure 1. Cheese spread: а – control and b – with collagen (magnification ×127); с – control and d – with collagen (magnification ×318); е – control and f – with collagen (magnification ×1,270)

Коллаген усилил стабильность эмульсии за счет укрепления белковой матрицы. Укрепленная белковая матрица лучше удерживает жировые глобулы, не позволяя им сливаться даже при механических воздействиях, например перемешивании. Мелкие жировые глобулы обеспечивают более гладкую и однородную текстуру, что особенно важно для пастообразных сыров. Гидролизированный коллаген не оказывает прямого влияния на жир в продукте, но за счет укрепления белковой матрицы и предотвращения коалесценции жировых глобул способствует сохранению мелкодисперсной жировой фазы и может косвенно стабилизировать эмульсию. Сыр с меньшими жировыми глобулами будет лучше плавиться и распределяться, например, в соусах или при нагревании.

В пищевых эмульсиях, включая плавленые сыры, стабильность системы зависит от размера жировых капель. Мелкие глобулы (5,0–20,0 мкм) менее склонны к коалесценции из-за большей площади поверхности и электростатического отталкивания. Они формируют более однородную структуру, что улучшает текстуру и срок годности сыров. Крупные глобулы (> 20,0 мкм) легче сливаются, что приводит к расслоению эмульсии (отделение жира или воды). Этот принцип универсален для многих эмульгированных продуктов, включая майонез, мороженое и плавленый сыр. При размере глобул менее 20,0 мкм уменьшается скорость всплытия жира (по закону Стокса), повышается устойчивость к окислению (меньшая площадь контакта с кислородом). Есть отличия и в органолептических свойствах: глобулы размером менее 20,0 мкм не ощущаются языком как «зернистые», что важно для гладкой текстуры пастообразных сыров. В исследованиях плавленых сыров оптимальный размер жировых глобул для стабильной эмульсии обычно находится в диапазоне 5,0–20,0 мкм. Наш результат (средний размер жировых глобул в опытном образце составляет 14,8 мкм) попадает в этот диапазон, что подтверждает эффективность гидролизованного коллагена как функционально-технологического компонента.

В контрольном образце (рис. 1а, с, е) наблюдались пустоты и каналы, где отделилась влага (признаки синерезиса). В опытном образце пустот меньше и более равномерное распределение водной фазы, структура выглядит более связной. ГК обладает высокой способностью связывать воду благодаря наличию гидро-

фильных групп в своей структуре. Гидролизированный коллаген связывает воду, снижая подвижность жировых глобул и замедляя их перемещение и слипание. Таким образом, подтверждена гипотеза о том, что ГК повышает водосвязывающую способность образца.

На микрофотографиях образца с коллагеном (рис. 1b, d, f) наблюдалось на 20 % меньше пустот и уменьшение среднего размера жировых глобул на 44 % (с 26,5 мкм до 14,8 мкм), что свидетельствует о том, что гидролизированный коллаген укрепил белковую матрицу, создал физический барьер, препятствующий коалесценции жировых капель, стабилизировал эмульсию, а также улучшил структурно-механические характеристики плавленого сыра.

Выявленные особенности микроструктуры плавленого сыра, обобщенные в таблице 2, отражаются на его свойствах. Поскольку в опытном образце жировые глобулы мельче, пустот меньше, а белковая матрица плотнее – сыр с коллагеном будет более пластичным, что согласуется с результатами наших исследований реологических свойств образцов.

Гистограммы распределения размеров жировых глобул для обоих образцов приведены на рисунке 2. Визуализация помогает определить форму распределения (нормальная, бимодальная, асимметричная и т. д.), а также подтвердить влияние коллагена на структуру сыра.

Визуальный анализ гистограмм позволяет сделать вывод, что в контрольном образце сыра (рис. 2а) распределение правостороннее с длинным «хвостом» в сторону крупных глобул (до 97 мкм), есть отдельные выбросы (жировые глобулы размером > 50 мкм). В образце плавленого пастообразного сыра с гидролизированным коллагеном (рис. 2b) распределение близко к нормальному с пиком на 11–15 мкм, диапазон сужен по сравнению с контрольным образцом (6–29 мкм), выбросы отсутствуют.

Важно также обратить внимание на разницу в диапазонах размеров. В контрольном образце (рис. 2а) размеры варьируются от 12 до 97 мкм, в опытном (рис. 2b) – от 6 до 29 мкм. Это указывает на то, что добавление коллагена может способствовать более однородной структуре глобул. Однако в виде утверждения эта гипотеза является дискуссионной: для ее подтверждения (или опровержения) необходимо установить, насколько статистически значимы эти различия.

Таблица 2. Типичные изменения в структуре плавленого пастообразного сыра при добавлении гидролизованного коллагена

Table 2. Effect of hydrolyzed collagen on cheese spread structure

Параметр	Контрольный образец	Опытный образец
Жировые глобулы	Крупные, неравномерные, Средний размер – 26,5 мкм	Мелкие, равномерные, Средний размер – 14,8 мкм
Белковая матрица	С разрывами, неравномерная	Плотная, непрерывная
Водная фаза	Пустоты, трещины	Минимум пустот

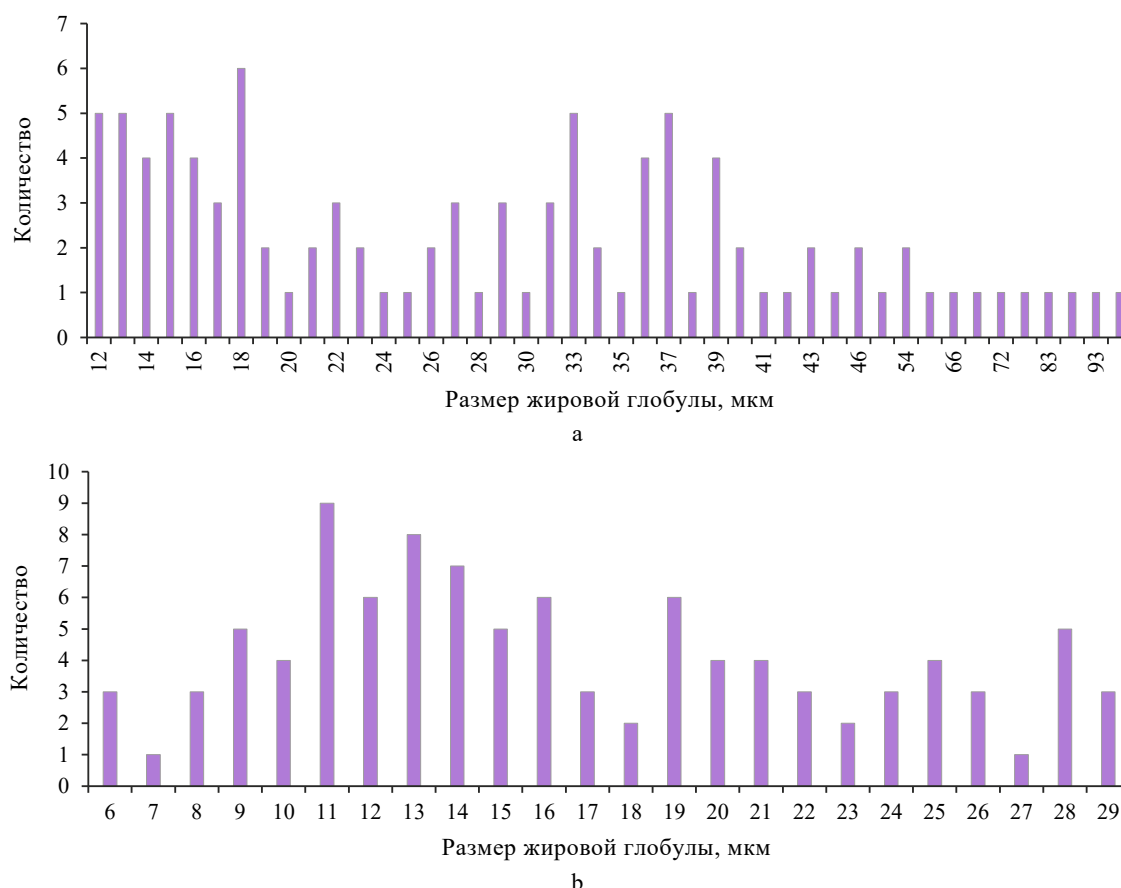


Рисунок 2. Гистограммы распределения размеров жировых глобул в образцах плавленого пастообразного сыра: а – без наполнителей (контроль); б – с коллагеном

Figure 2. Fat globule size: a – control; b – experimental sample with collagen

Для обоих образцов рассчитаны основные статистические показатели (табл. 3), что поможет понять центральные тенденции и разброс данных. Средний размер глобул показывает, есть ли значимое различие между контрольным и опытным образцами, медиана дает представление о типичном размере жировых глобул в образцах, а стандартное отклонение – о вариативности размеров глобул.

В опытном образце средний размер жировых глобул снизился на ~ 44 % (с 26,5 до 14,8 мкм). Стандартное отклонение уменьшилось в 3 раза, что указывает на большую однородность размеров. Узкий диапазон (6–29 мкм) и отсутствие статистических выбросов в распределении размеров жировых глобул в опытном образце являются признаком положительного влияния ГК на структуру продукта.

Для достоверных выводов о влиянии гидролизованного коллагена на структуру плавленых сыров необходимо дать оценку статистической значимости различий в размере жировых глобул контрольного и опытного образцов. С целью кросс-валидации расчетов использовали оба теста (параметрический и непараметрический).

Проведена проверка выполнения условий для применения параметрических тестов (t -критерий Стьюдента предполагает нормальность распределения и равенство дисперсий). Для контрольного образца проверка нормальности распределения (тест Шапиро-Уилка) показала, что распределение ненормальное (асимметричное) с выбросами (p -value < 0,05). В опытном образце нормальность распределения не отвергается (p -value > 0,05). Так как одно из распределений ненормальное (у контрольного образца нарушено условие нормальности), параметрический t -критерий может быть ненадежен. Однако, поскольку выборка большая ($N = 100$), t -критерий можно применять с осторожностью, либо использовать непараметрические тесты (U -критерий Манна-Уитни). Проверка равенства дисперсий (тест Левена) показала, что дисперсии не равны (p -value < 0,001), поэтому используем t -критерий Уэлча, не предполагающий равенства дисперсий. Размеры выборок N равны (по 100 жировых глобул в каждой), что положительно сказывается на мощностях тестов. Для рассчитанных величин t -критерия Уэлча ($t = 6,07$) и его степени свободы ($df \approx 118$), p -значение < 0,0001, то есть средние размеры жировых глобул в контроль-

Таблица 3. Основные статистические показатели размера жировых глобул образцов плавленого сыра

Table 3. Fat globule size in cheese spreads

Показатель	Контрольный образец	Опытный образец
Диапазон, мкм	12–97	6–29
Средний размер, мкм	26,47	14,81
Медиана, мкм	22	12
Стандартное отклонение, мкм	18,2	6,1

Таблица 4. Статистическая оценка значимости различий в размере жировых глобул

Table 4. Significant differences in fat globule size

Показатель	Значение
Параметрический тест (<i>t</i> -критерий Уэлча)	
<i>t</i> -статистика	6,07
Степени свободы (df)	117,6
<i>p</i> -value	< 0,0001
Размер эффекта (d Коэна)	0,86 (d > 0,8; большой)
Непараметрический тест (U-критерий Манна-Уитни)	
U-статистика	400
<i>p</i> -value	< 0,0001
Однофакторный анализ (ANOVA)	
<i>F</i> -статистика	36,89
<i>p</i> -value	< 0,0001

ном и опытном образцах сыров статистически значимо различаются ($p < 0,05$). Дополнительно рассчитан размер эффекта по критерию Коэна, который показывает, насколько велико различие между выборками: $d = 0,86$.

Проведен непараметрический тест Манна-Уитни (U-тест). Сначала объединили данные контрольной и опытной выборок в один список и ранжировали все значения от наименьшего к наибольшему. Минимальное из значений U-статистики использовался для сравнения с критическим значением. Для размера выборки, равного 100, при $\alpha = 0,05$ критическое значение $U_{\text{крит}} \approx 3960$. Поскольку в нашем случае $U < U_{\text{крит}}$ ($U = 400 < 3960$), различия значимы.

Однофакторный анализ (ANOVA) также подтвердил статистическую значимость различий ($p < 0,0001$), что согласуется с *t*-критерием.

В таблице 4 приведены результаты статистической оценки значимости различий размера жировых глобул в плавленом сыре с ГК и без него. Гипотеза H_0 (отсутствие различий между группами) отвергается во всех тестах (табл. 4). Как параметрические, так и непараметрические тесты подтвердили, что различия между группами статистически значимы ($p < 0,05$), размер эффекта указывает на практическую значимость различий. Тесты подтвердили, что добавление гидролизованного коллагена значительно влияет на размер жировых глобул в плавленом сыре, существенно уменьшая их средний размер ($p < 0,0001$). Размер эффекта ($d = 0,86$) классифицируется как большой по критериям Коэна, что согласуется с гипотезой о стабилизирующем действии коллагена.

Таким образом, гипотеза о том, что гидролизированный коллаген в плавленом сыре действует как эмульгатор, предотвращая коалесценцию жировых глобул, подтвердилась статистическими данными. Добавление ГК приводит к значительному уменьшению диаметра жировых глобул (на 44 % по сравнению с контрольным образцом) и выравниванию их размеров, что позволяет прогнозировать улучшение текстуры и стабильности плавленого сыра.

На следующем этапе исследований провели оценку однородности белковой матрицы в образцах плавленого сыра (рис. 3). Проведение 3D-поверхностного анализа позволит дать более полную характеристику структурно-функциональных изменений, вызванных введением ГК, и подтвердить данные о его роли в формировании свойств плавленого пастообразного сыра. В контексте микроструктуры сыра высокие пики коррелируют с плотными участками белковой матрицы образцов, низкие области – поры, водная фаза или жировые глобулы, градиент цвета (от синего к белому) показывают изменение высоты (интенсивности).

В контрольном образце (рис. 3а) наблюдается неоднородная поверхность: высокие пики (белковые агрегаты) чередуются с глубокими впадинами, крупные впадины указывают на высокую пористость образца, низкая плотность пиков свидетельствует о слабом поперечном сшивании белковой матрицы. В образце плавленого пастообразного сыра с коллагеном (рис. 3б) наблюдается более гладкая поверхность: уменьшение перепадов высоты за счет уплотнения белковой матрицы, мелкие впадины указывают на снижение

пористости, а высокая плотность пиков является признаком усиления белковой матрицы.

Впервые установлено, что включение гидролизованного коллагена в состав плавленого пастообразного сыра индуцирует ряд структурно-функциональных изменений в его микроструктуре. Они обусловлены физико-химическими взаимодействиями между коллагеновыми пептидами и остальными компонентами рецептуры, в основе которых, вероятно, лежат механизмы, описанные далее.

В основе модификации белковой матрицы лежат полимерно-коллоидные взаимодействия. Плавленый сыр представляет собой полимерный аморфный гель на основе казеина, формирование гомогенной структуры которого обеспечивают соли-плавители. ГК, состоящий из низкомолекулярных пептидов, интегрируется в эту белковую матрицу через ионные и гидрофобные взаимодействия и водородные связи, формируя гибридную биополимерную сеть.

Гидрофобные участки пептидов гидролизованного коллагена взаимодействуют с κ - и α -казеином, усиливая прочность белковой матрицы. Отрицательно заряженные карбоксильные группы ГК вступают в ион-дипольное взаимодействие с положительно заряженными аминогруппами лизина казеина, особенно в присутствии солей-плавителей, регулирующих ионную силу. Гидроксильные группы гидроксипролина в ГК формируют водородные связи с карбонильными группами казеина, повышая прочность белковой матрицы. В комплексе эти взаимодействия приводят к увеличению степени прочности поперечных связей белковой матрицы, что подтверждается снижением среднего размера пор на микрофотографиях, соответствующим, таким образом, модели Флори-Хаггинса для растворов полимеров с ограниченной подвижностью. Эти выводы согласуются с полученными авторами данными реологического анализа образцов.

Жировая фаза плавленого сыра – это эмульсия типа «масло в воде», где жировые глобулы (триглицериды молочного жира) диспергированы в белковой матрице. Гидролизированный коллаген влияет на их стабильность несколькими путями:

1. Через уменьшение межфазного натяжения (амфифильные пептиды ГК, содержащие гидрофильный гидроксипролин и гидрофобный глицин, адсорбируются на поверхности жировых глобул, снижая энергию Гиббса на границе раздела фаз, что способствует формированию более мелких глобул, в нашем случае средний диаметр снижается с 26,5 мкм до 14,8 мкм);

2. Посредством электростатической и стерической стабилизации (анионные пептиды гидролизованного коллагена образуют защитный слой вокруг глобул, предотвращая коалесценцию по механизму DLVO (Дерягина-Ландау-Фервея-Овербека) за счет увеличения энергетического барьера между каплями);

3. Через усиление вязкоупругих свойств белковой матрицы (укрепленная матрица ограничивает подвижность жировых глобул, подавляя их ортокинетическую агрегацию).

Водная фаза в плавленом сыре также претерпевает модификацию. Гидролизированный коллаген проявляет выраженную гидрофильность благодаря высокому содержанию полярных аминокислот (например гидроксипролин). Это приводит к связыванию свободной воды и равномерному распределению влаги. Пептиды гидролизованного коллагена (группы -ОН гидроксипролина и -COOH глутаминовой кислоты) формируют гидратные оболочки вокруг своих гидрофильных групп, что снижает активность воды и уменьшает подвижность водной фазы. Гидратированные пептиды ГК интегрируются в казеиновую сеть, формируя биополимерные комплексы, которые равномерно распределяют воду в белковой матрице и способствуют ее иммобилизации. На микрофотографиях

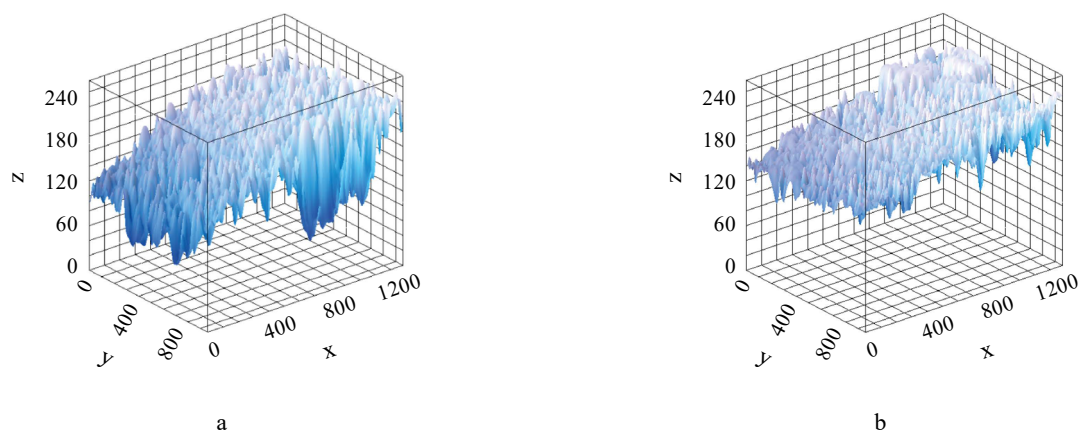


Рисунок 3. Оценка однородной белковой матрицы в образцах плавленого пастообразного сыра: а – без наполнителей (контроль); б – с коллагеном (опыт)

Figure 3. Homogeneous protein matrix: a – control; b – experimental sample with collagen

это проявляется как уменьшение макропор и отсутствие зон локальной дегидратации.

Одним из ключевых параметров, влияющих на потребительские характеристики плавленых сыров, являются реологические свойства: вязкость, адгезия, упругость и прочность. Включение ГК в рецептуру пищевых систем отражается на их гидратационных свойствах и может оказывать значительное влияние на реологическое поведение конечного продукта.

Образец с коллагеном в значительно большей степени обладает вязкостными и адгезионными свойствами по сравнению с контрольным образцом, что визуально выражается в большей степени налипания на индентор.

На рисунке 4 представлены графики, отображающие величину сопротивления деформации (напряжение сдвига), которое оказывает плавленый сыр погружаемому в него индентору. Напряжение сдвига сначала минимально, затем увеличивается с глубиной, достигает максимума, а после наблюдается тенденция

к стабилизации. Такое поведение типично для пластичных материалов: сначала деформируются упруго, затем – пластически.

Образец сыра с коллагеном в значительно большей степени обладает вязкостными и адгезионными свойствами по сравнению с контрольным образцом. Анализ данных (рис. 4а) наглядно подтверждает увеличение вязкости в опытном образце сыра по сравнению с контрольным, включение ГК в рецептуру сыра увеличивает сопротивление деформации. Зависимость напряжения сдвига от глубины погружения имеет нелинейный характер, что соответствует неньютоновскому поведению.

На кривых отчетливо видно отсутствие пиков предела прочности как в момент начала эксперимента (соприкосновения поверхности сыра с индентором), так и на протяжении всего хода эксперимента при погружении прямого горизонтального индентора в образцы плавленого сыра на глубину до 50 мм со скоростью 10 мм/с. Нарастание напряжения сдвига шло

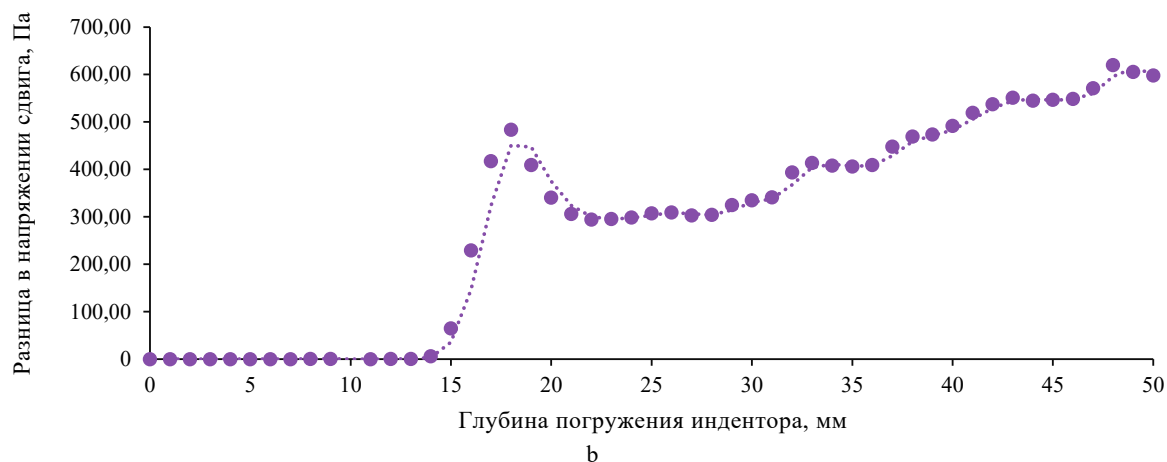
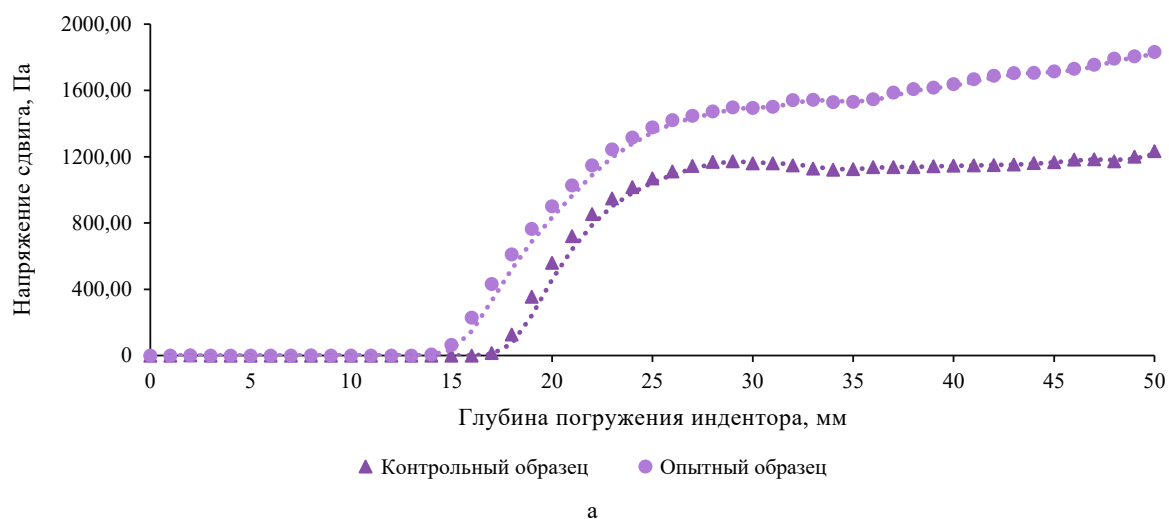


Рисунок 4. Реограммы плавленого пастообразного сыра: а – зависимость напряжения сдвига от глубины погружения индентора; б – различия между образцами

Figure 4. Rheograms of cheese spread samples: а – effect of indenter immersion on shear stress; б – differences across samples

достаточно плавно, резкого падения после превышения предела прочности в образцах не наблюдалось. В контрольном образце плавленого сыра напряжение сдвига плавно росло до $\sim 1234,00$ Па, затем стабилизировалось. Отсутствие явно выраженных пиков указывает на пластичное поведение.

В опытном образце максимальное напряжение сдвига достигало $\sim 1833,00$ Па, рост сопротивления деформации более выражен, отмечалась высокая адгезия: налипание на индентор. На глубине 50 мм среднее напряжение сдвига для контрольного образца составило $1234,31 \pm 152,88$ Па, а для опытного – $1832,60 \pm 186,69$ Па. Сопротивление деформации для образца сыра с коллагеном составило 1832,60 Па, что на 48 % выше контроля (1234,31 Па).

Сопротивление погружению индентора в исследуемые образцы по мере продвижения менялось в зависимости от степени структурообразования в сырах. Анализ скорости изменения напряжения сдвига показал, что в контрольном образце средняя скорость изменения напряжения сдвига составила $\sim 24,50$ Па/мм (равномерное нарастание напряжения сдвига), минимальная скорость 0,49 Па/мм (локальное разупрочнение), в опытном образце средняя скорость изменения напряжения сдвига $\sim 34,30$ Па/мм, отмечаются локальные аномалии (65,17 Па/мм на глубине 15–20 мм), связанные с усилением структурирования. Таким образом, влияние ГК выразилось в возрастании средней скорости изменения напряжения сдвига, вязкость в опытном образце возросла на 40 % по сравнению с контролем.

Рисунок 4b позволяет количественно оценить различия – максимальная разница в напряжении сдвига на инденторе составляет $\sim 588,00$ Па, средняя разница между образцами $\sim 392,00$ Па.

При соблюдении условий значимость отличий средних двух групп (контроль, опыт) можно оценить по t -критерию Стьюдента. Нормальность распределения подтверждена с использованием критерия Шапиро-Уилка. Однако, поскольку по критерию Левена равенство дисперсий не подтвердилось ($p < 0,05$) и условия для t -критерия Стьюдента не соблюдены, для сравнения групп применен t -критерий Уэлча. Получено значение $p = 0,024$. Так как $p < 0,05$, нулевая гипотеза о равенстве средних отвергается, разница в 392,00 Па между образцами не случайна и статистически значима.

С целью кросс-валидации расчетов при нарушении условия гомоскедастичности дополнительно проведен дисперсионный анализ (ANOVA) с поправкой Уэлча для оценки значимости различий и внутригрупповой вариативности между контрольным и опытным образцами (по тесту Шапиро-Уилка распределения нормальны, по критерию Левена дисперсии неравны). Контрольный образец: среднее напряжение сдвига – 1234,31 Па, стандартное отклонение – 152,88 Па. Опытный образец: среднее напряжение сдвига 1832,60 Па, стандартное отклонение 186,69 Па.

Результаты показали, что F -статистика равна 43,21, p -value $< 0,001$, что указывает на статистически значимые различия между группами. Коэффициент вариации для контрольного образца составил 12,3 % (152,88 Па), для опытного – 10,2 % (186,69 Па), что указывает на более высокую дисперсию в группе с коллагеном. Межгрупповая вариативность – 598,29 Па (48 % от среднего значения контрольного образца). И параметрический тест по t -критерию Уэлча, и однофакторный анализ (ANOVA) подтвердили статистическую значимость различий в реологических свойствах образцов.

Внесение гидролизованного коллагена в смесь для плавления увеличило вязкость сыра, но практически не обеспечило прочностных свойств – характерных пиков предела прочности в экспериментальном образце не наблюдалось. Коллаген конкурирует с казеином за Ca^{2+} -связи, что снижает эффективность образования ковалентных сшивок, вместо этого формируются водородные связи с гидрофобными участками коллагена, что объясняет вязкостное, а не упругое поведение системы. Можно сделать вывод, что вязкие свойства преобладают над упругими, сыр остается пластичным, что хорошо для пастообразных продуктов. Хотя пластичность сохраняется, вязкость увеличивается, что способствует улучшению удержания формы при нагреве (является положительным эффектом для горячих блюд с сыром).

Отмечено неньютоновское поведение образцов: напряжение сдвига растет нелинейно с глубиной погружения индентора. Реологическое поведение образцов плавленого сыра с ГК хорошо описывает модель Сиско, которая позволяет охарактеризовать нелинейное поведение материалов, когда при низких скоростях деформации доминирует вязкость, а при высоких – упругость.

Предположительно, в основе выявленных закономерностей лежат следующие основные механизмы:

- гидратация пептидов коллагена $\rightarrow$ рост вязкости за счет связывания воды;
- адсорбция на жировых глобулах $\rightarrow$ усиление адгезии;
- отсутствие ковалентных сшивок $\rightarrow$ сохранение низкой прочности.

Гидролизированный коллаген взаимодействует с белково-липидной матрицей плавленого сыра. Полярные группы ($-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$) глицина и аланина формируют гидратные оболочки вокруг пептидов коллагена, увеличивая общую гидратационную емкость пищевой системы, что приводит к снижению подвижности свободной воды в сырной массе и росту вязкости в опытном образце сыра. Пролин нарушает упорядоченность казеиновых мицелл, следовательно увеличивает площадь контакта между белковыми фазами и водой, усиливая вязкоупругие свойства. Коллагеновые пептиды, благодаря наличию гидрофильных участков, адсорбируются на поверхности жировых глобул, формируя межфазные слои. Это усиливает адгезию между жировой и водной фазами (визуально проявляется в налипании массы на индентор). Коллаген конкурирует с казеином за участки гидратации, что вызывает

частичную дестабилизацию белковой сети. Это объясняет отсутствие роста прочности, несмотря на увеличение вязкости. Схематично модель взаимодействия можно представить как: казеин- Ca^{2+} -казеин + коллаген $\rightarrow$ казеин-коллаген (водородные связи) + Ca^{2+} (слабые ионные связи). Такие связи менее устойчивы к деформации, чем кальций-опосредованные сшивки казеина, они снижают предел прочности.

Увеличение вязкости опытного образца связано с формированием псевдосетки за счет водородных связей между коллагеном и казеином и с повышением плотности жировой фазы из-за адсорбции коллагена на глобулах. Классический предел прочности в сырах возникает при разрушении ковалентных сшивок в белковой сетке. В нашем случае коллаген не образует таких связей, что регистрируется как плавный рост напряжения сдвига и отсутствие влияния на предел прочности. Отсутствие пиков предела прочности свидетельствует о том, что коллаген в сырной массе не формирует жесткую белковую матрицу. Это критично для пастообразных сыров, где пластичность – ключевой параметр.

Гидролизированный коллаген рекомендован к использованию в составе плавленых сыров, требующих высокой адгезии и пластичности (например пастообразные сыры, сыры для соусов). Использование ГК не рекомендовано в сырах, где важна высокая структурная прочность (например ломтевые сыры, колбасный сыр). Полученные результаты открывают перспективы для дальнейшей оптимизации текстуры плавленых пастообразных сыров.

Выводы

Включение 3,1 % гидролизованного коллагена (ГК) в рецептуру способствует улучшению структурно-механических свойств плавленых пастообразных сыров. Добавление ГК в состав плавленого сыра приводит к уплотнению белковой матрицы и стабилизации жировой эмульсии за счет полимерно-коллоидных взаимодействий между коллагеновыми пептидами и казеином, что проявляется в уменьшении размера жировых глобул на 44 %, отсутствии их коалесценции и кластеризации, снижении на 20 % пористости беловой матрицы и повышении однородности распределения водной фазы. Введение ГК в рецептуру приводит к увеличению адгезии и вязкости плавленого сыра на 40 %. Это указывает на формирование псевдосетки, но не обеспечивает прочностных свойств, что связано с отсутствием ковалентных сшивок. Вязкие свойства преобладают над упругими, благодаря чему сыр сохраняет пластичность, которая является положительным качеством для пастообразных продуктов.

Гидролизированный коллаген действует как многофункциональный модификатор структуры плавленого пастообразного сыра, обеспечивая формирование гибридной казеин-коллагеновой матрицы с повышенной прочностью поперечных связей, коллоидную стабилизацию жировой эмульсии через механизмы Дерягина-Ландау-Фервея-Овербека, а также через контроль активности воды за счет гидратации пептидов. Эти изменения коррелируют с улучшением микроструктурных и реологических характеристик плавленого сыра, что подтверждается данными микроскопии, статистическим анализом и изучением теоретических механизмов стабилизации эмульсий.

ГК рекомендован к использованию в составе плавленых сыров, требующих высокой адгезии и пластичности (пастообразные сыры, сыры для соусов). Для сыров, в которых важна высокая структурная прочность (ломтевые сыры, колбасный сыр), использование гидролизованного коллагена не рекомендуется.

Критерии авторства

Все авторы внесли равный вклад в исследование и несут равную ответственность за информацию, опубликованную в данной статье.

Конфликт интересов

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

Благодарности

Выражаем благодарность д-ру техн. наук, профессору А. А. Майорову («Сибирский НИИ сыроделия» ФГБНУ ФАНЦА) за организацию реологических исследований образцов плавленого сыра.

Contribution

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

Conflict of interest

The authors declared no potential conflict of interest regarding the research, authorship, and / or publication of this article.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to A.A. Mayorov, Doctor of Technical Sciences, Siberian Research Institute of Cheese Production, Federal Altai Scientific Center of Agrobiotechnology, Barnaul, for assisting in the rheological research.

Список литературы / References

1. Gunasekaran S, Ak MM, Everett DW. Cheese Rheology and Texture. 2nd edition. Boca Raton: CRC Press; 2025. 502 p. <https://doi.org/10.1201/9781003298243>

2. Šantová K, Salek RN, Kůrová V, Mizera A, Lapčíková B, *et al.* Potassium-based emulsifying salts in processed cheese: A rheological, textural, tribological, and thermal approach. *Journal of Dairy Science*. 2024;107(10):7704–7717. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-24939>
3. Тутельян В. А., Мусина О. Н., Балыхин М. Г., Щетинин М. П., Никитюк Д. Б. Цифровая нутрициология: применение информационных технологий при разработке и совершенствовании пищевых продуктов. Москва, Барнаул: Азбука; 2020. 378 с. [Tutelian VA, Musina ON, Balykhin MG, Shchetinin MP, Nikityuk DB. Digital nutrition: Information technology in developing and improving food products. Moscow, Barnaul: Azbuka; 2020. 378 p. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/CPPPPOW>
4. Musina O, Putnik P, Koubaa M, Barba FJ, Greiner R, *et al.* Application of modern computer algebra systems in food formulations and development: A case study. *Trends in Food Science & Technology*. 2017;64:48–59. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.011>
5. Drewnowski A, Detzel P, Klassen-Wigger P. Perspective: Achieving sustainable healthy diets through formulation and processing of foods. *Current Developments in Nutrition*. 2022;6(6):nzac089. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzac089>
6. Santiago-López L, García-Romo JS, Hernández-Mendoza A, Vallejo-Córdoba B, González-Córdova AF. Insights into health-promoting components in cheese beyond bioactive peptides. *ACS Food Science & Technology*. 2024;4(3):537–548. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.3c00516>
7. Fernandes J, Gomes S, Reboredo FH, Pintado ME, Amaral O, *et al.* Clean label approaches in cheese production: Where are we? *Foods*. 2025;14(5):805. <https://doi.org/10.3390/foods14050805>
8. Solhi P, Azadmard-Damirchi S, Hesari J, Hamishehkar H. Production of the processed cheese containing tomato powder and evaluation of its rheological, chemical and sensory characteristics. *Journal of Food Science and Technology*. 2020;57(6):2198–2205. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04256-1>
9. El-Aidie S, Mabrouk A, Abd-Elgawad AR, El-Garhi H-EM. Physicochemical, textural and organoleptic properties of functional processed cheese manufactured from ultrafiltered milk. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2023;51:102798. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102798>
10. Kratochvílová A, Salek RN, Vašina M, Lorencová E, Kůrová V, *et al.* The impact of different hydrocolloids on the viscoelastic properties and microstructure of processed cheese manufactured without emulsifying salts in relation to storage time. *Foods*. 2022;11(22):3605. <https://doi.org/10.3390/foods11223605>
11. Fu W, Yano H. Exploring melting behaviours of different cheese products by structural characteristics and rheological properties. *International Journal of Dairy Technology*. 2022;75(4):874–881. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12895>
12. Kůrová V, Salek RN, Černíková M, Lorencová E, Zalešáková L, *et al.* Furcellaran as a substitute for emulsifying salts in processed cheese spread and the resultant storage changes. *International Journal of Dairy Technology*. 2022;75(3):679–689. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12871>
13. Asaduzzaman M, Haque E, Haque MA, Mahomud MS, Alam MR. Emulsification potential of milk fat globule membrane material microfiltrated from buttermilk whey. *International Food Research Journal*. 2023;30(2):334–342. <https://doi.org/10.47836/ifrj.30.2.05>
14. Wang C, Qiao X, Gao Z, Jiang L, Mu Z. Advancement on milk fat globule membrane: Separation, identification, and functional properties. *Frontiers in Nutrition*. 2022;8:807284. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.807284>
15. Schädle C, Büttner A. Impact of fat replacers on the rheological, tribological, and aroma release properties of reduced-fat model emulsion systems and processed cheese. *Lebensmittelchemie*. 2023;77(S2):S2-024–S2-025. <https://doi.org/10.1002/lemi.202352206>
16. Truong T, Bhandari B. Role of differentiated-size milk fat globules on the physical functionality of dairy-fat structured products. In: Truong T, Lopez C, Bhandari B, Prakash S, editors. *Dairy Fat Products and Functionality*. Cham: Springer; 2020. P. 327–354. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41661-4_14
17. Vollmer AH, Kieferle I, Youssef NN, Kulozik U. Mechanisms of structure formation underlying the creaming reaction in a processed cheese model system as revealed by light and transmission electron microscopy. *Journal of Dairy Science*. 2021;104(9):9505–9520. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-20080>
18. Lee SK, Klostermeyer H, Schrader K, Buchheim W. Rheological properties and microstructure of model processed cheese containing low molecular weight emulsifiers. *Nahrung*. 1996;40(4):189–194. <https://doi.org/10.1002/food.19960400406>
19. Mulsow BB, Jaros D, Rohm H. Processed cheese and cheese analogues. In: Tamime A, editor. *Structure of Dairy Products*. Oxford: Blackwell; 2007. P. 180–200. <https://doi.org/10.1002/9780470995921.ch8>
20. Błaszak B, Gozdecka G, Shyichuk A. Carrageenan as a functional additive in the production of cheese and cheese-like products. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 2018;17(2):107–116. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.0550>
21. Makshakova ON, Zuev YF. Interaction-induced structural transformations in polysaccharide and protein-polysaccharide gels as functional basis for novel soft-matter: A case of carrageenans. *Gels*. 2022;8(5):287. <https://doi.org/10.3390/gels8050287>
22. Ahmad S, Butt MS, Pasha I, Sameen A. Quality of processed cheddar cheese as a function of emulsifying salt replaced by κ-carrageenan. *International Journal of Food Properties*. 2016;19(8):1874–1883. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1085396>

23. Voroshilin RA, Kurbanova MG, Ostapova EV, Makhambetov EM, Petrov AN. Effect of gelatin drying methods on its amphiphilicity. *Foods and Raw Materials*. 2022;10(2):252–261. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-2-534>
24. Voroshilin RA. Technology of enzymatic-acid hydrolysis of bone raw material in production of gelatine. *Theory and Practice of Meat Processing*. 2021;6(3):279–284. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2021-6-3-279-284>
25. León-López A, Morales-Peñaloza A, Martínez-Juárez VM, Vargas-Torres A, Zeugolis DI, et al. Hydrolyzed collagen-sources and applications. *Molecules*. 2019;24(22):4031. <https://doi.org/10.3390/molecules24224031>
26. da Mata Rigoto J, Ribeiro THS, Stevanato N, Sampaio AR, Ruiz SP, et al. Effect of açai pulp, cheese whey, and hydrolysate collagen on the characteristics of dairy beverages containing probiotic bacteria. *Journal of Food Process Engineering*. 2019;42:e12953. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12953>
27. de Castro Santana R, Sato ACK, da Cunha RL. Emulsions stabilized by heat-treated collagen fibers. *Food Hydrocolloids*. 2012;26(1):73–81. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.04.006>
28. Javad Ataie M, Seyed PHS, Seyed HJ. Gelatin from bones of bighead carp as a fat replacer on physicochemical and sensory properties of low-fat mayonnaise. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2019;8(4):979–983. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019.8.4.979-983>
29. Hjelm L, Mielby LA, Gregersen S, Eggers N, Bertram HC. Partial substitution of fat with rye bran fibre in Frankfurter sausages – Bridging technological and sensory attributes through inclusion of collagenous protein. *LWT*. 2019;101:607–617. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.055>
30. Tang Z, Yang S, Li W, Chang J. Fat replacers in frozen desserts: functions, challenges, and strategies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2025;24(3):e70191. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70191>
31. Biswal S, Agmon N. Collagen structured hydration. *Biomolecules*. 2023;13(12):1744. <https://doi.org/10.3390/biom13121744>
32. Гиро Т. М., Зубов С. С., Яшин А. В., Гиро А. В., Преображенски В. А. Биомодификация коллагенсодержащих субпродуктов методом ферментативного гидролиза. *Техника и технология пищевых производств*. 2019. Т. 49. № 2. С. 262–269. [Giro TM, Zybov SS, Yashin AV, Giro AV, Preobrazhensky VA. Biomodification of collagen-containing by-products by enzymatic hydrolysis. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2019;49(2):262–269. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-262-269>
33. Гинзбург М. А., Дунченко Н. И. Влияние вида коллагена на структурно-механические свойства сметанных продуктов. *Молочная промышленность*. 2023. № 4. С. 25–27. [Ginzburg MA, Dunchenko NI. Influence of the type of collagen on the structural and mechanical properties of sour cream products. *Dairy industry*. 2023;(4):25–27. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2023-04-25-27>
34. Al Hajj W, Salla M, Krayem M, Khaled S, Hassan HF, et al. Hydrolyzed collagen: Exploring its applications in the food and beverage industries and assessing its impact on human health – A comprehensive review. *Heliyon*. 2024;10(16):e36433. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36433>
35. Soutelino MEM, da Silva Rocha R, de Oliveira BCR, Mársico ET, de Oliveira Silva AC. Technological aspects and health effects of hydrolyzed collagen and application in dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2024;64(18):6120–6128. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2163974>
36. Мусина О. Н., Нагорных Е. М. Влияние коллагена на структурно-механические характеристики плавленого сыра. *Ползуновский вестник*. 2023. № 2. С. 112–118. [Musina ON, Nagornyh EM. Investigation of the possibility of using hydrolyzed collagen in processed cheese technology. *Polzunovskiy vestnik*. 2023;(2):112–118. (In Russ.)] <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2023.02.014>

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2597>
<https://elibrary.ru/WLCOKS>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Антимикробные свойства экстрактов *Pulmonaria officinalis*, *Heracleum sibiricum*, *Syringa vulgaris*, произрастающих в Сибири

В. А. Люц^{1,*}, С. Ю. Харлов¹, Н. С. Величкович¹,
Л. А. Проскурякова¹, Е. В. Остапова²,
С. А. Иванова¹, О. В. Козлова¹

¹ Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

² Институт химии углерода и химического материаловедения СО РАН, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 16.05.2025

Принята после рецензирования: 12.08.2025

Принята к публикации: 02.09.2025

*В. А. Люц: veronichkalutz@mail.ru,

<https://orcid.org/0009-0002-5706-7727>

С. Ю. Харлов: <https://orcid.org/0009-0006-1103-614X>

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

Л. А. Проскурякова: <https://orcid.org/0000-0002-9583-9161>

Е. В. Остапова: <https://orcid.org/0000-0002-4704-484X>

С. А. Иванова: <https://orcid.org/0000-0002-1252-9572>

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

© В. А. Люц, С. Ю. Харлов, Н. С. Величкович, Л. А. Проскурякова,
Е. В. Остапова, С. А. Иванова, О. В. Козлова, 2025



Аннотация.

Предотвращение порчи продуктов, вызываемой патогенными микроорганизмами, без ущерба для их качества – важная задача пищевой промышленности. Растительные экстракты, особенно экстракты высших растений, являются одними из наиболее эффективных и безопасных компонентов, содержащих органические кислоты и полифенольные соединения, способные ингибировать рост различных патогенных микроорганизмов. Целью настоящего исследования являлось изучение *in vitro* антимикробных свойств образцов экстрактов растений Кемеровской области – Кузбасса (Западная Сибирь, Россия), перспективных для использования в разработке новых природных антисептических и антимикробных препаратов.

Для исследования выбраны образцы растений: борщевика сибирского (*Heracleum sibiricum* L.), медуницы лекарственной (*Pulmonaria officinalis* L.), сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.). Из них получены водно-спиртовые экстракты различной концентрации (40, 55, 60, 70 %), для которых диско-диффузионным методом определяли антимикробную активность *in vitro*. Метаболомный состав образцов экстрактов изучали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектором. Концентрацию соединений рассчитывали по калибровочным уравнениям.

Образцы экстрактов *H. sibiricum*, *P. officinalis* и *S. vulgaris* обладали различной антимикробной активностью. Наиболее широкий спектр действия продемонстрировали образцы 40 и 60 % водно-спиртовых экстрактов борщевика сибирского, ингибируя рост *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas putida* и *Pseudomonas aeruginosa*. Кумариновые соединения, присутствующие в экстракте, разрушали клеточные мембраны и препятствовали образованию биопленок. Образцы *P. officinalis* проявили активность против *Bacillus cereus* и *P. aeruginosa*; *S. vulgaris* ингибировали рост *Candida albicans* и *E. coli* благодаря антоцианам и органическим кислотам, которые также служат натуральными консервантами.

Несмотря на подтвержденную антимикробную активность, применение данных экстрактов в пищевой промышленности требует дополнительных исследований. Необходимо доказать их безопасность, оценить влияние на вкус и свойства продуктов, а также изучить стабильность и их взаимодействие с другими ингредиентами. Данное исследование вносит вклад в разработку новых природных антисептических и антимикробных препаратов, а также демонстрирует перспективность использования для этих целей биоактивных соединений растений Кемеровской области – Кузбасса.

Ключевые слова. Растительное сырье, *Pulmonaria officinalis*, *Heracleum sibiricum*, *Syringa vulgaris*, антимикробная активность, водно-спиртовой экстракт, патогенные микроорганизмы

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 23-16-00113. С использованием оборудования ЦКП «Инструментальные методы анализа в области прикладной биотехнологии» на базе КемГУ.

Для цитирования: Люц В. А., Харлов С. Ю., Величкович Н. С., Проскурякова Л. А., Остапова Е. В. и др. Антимикробные свойства экстрактов *Pulmonaria officinalis*, *Heracleum sibiricum*, *Syringa vulgaris*, произрастающих в Сибири. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 673–686. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2597>

Antimicrobial Properties of Siberian Wild Plant Extracts: *Pulmonaria officinalis*, *Heracleum sibiricum*, and *Syringa vulgaris*



Veronika A. Lutz^{1,*}, Sevastian Yu. Harlov¹,
Natalia S. Velichkovich¹, Larisa A. Proskuryakova¹,
Elena V. Ostapova², Svetlana A. Ivanova¹, Oksana V. Kozlova¹

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

² Institute of Carbon Chemistry and Chemical Materials Science, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences^{ROR}, Kemerovo, Russia

Received: 16.05.2025
Revised: 12.08.2025
Accepted: 02.09.2025

*Veronika A. Lutz: veronichkalutz@mail.ru,
<https://orcid.org/0009-0002-5706-7727>

Sevastian Yu. Harlov: <https://orcid.org/0009-0006-1103-614X>
Natalia S. Velichkovich: <https://orcid.org/0000-0002-9061-1256>
Larisa A. Proskuryakova: <https://orcid.org/0000-0002-9583-9161>
Elena V. Ostapova: <https://orcid.org/0000-0002-4704-484X>
Svetlana A. Ivanova: <https://orcid.org/0000-0002-1252-9572>
Oksana V. Kozlova: <https://orcid.org/0000-0002-2960-0216>

© V.A. Lutz, S.Yu. Harlov, N.S. Velichkovich, L.A. Proskuryakova, E.V. Ostapova,
S.A. Ivanova, O.V. Kozlova, 2025



Abstract.

Pathogenic microorganisms cause food spoilage. Food science knows a number of methods to prevent it without compromising the original food quality. Plant extracts are effective and safe components that contain organic acids and polyphenols capable of inhibiting the growth of pathogenic microorganisms. This *in-vitro* research featured the antimicrobial and metabolomic profiles of plant extracts from the Kemerovo Region, Western Siberia, Russia, as well as their antiseptic and antimicrobial prospects. The aqueous-alcohol extracts of *Heracleum sibiricum* L., *Pulmonaria officinalis* L., and *Syringa vulgaris* L. in various concentrations (40, 55, 60, 70%) were tested for antimicrobial activity *in vitro* using the disc diffusion method. The method of high-performance liquid chromatography with a UV detector made it possible to identify the metabolomic composition. The concentration was calculated mathematically, by calibration equations (3–5% mean error).

The extracts of *H. sibiricum*, *P. officinalis*, and *S. vulgaris* demonstrated different antimicrobial activities. The broadest range belonged to the 40 and 60% aqueous-alcoholic extracts of *H. sibiricum*, which were able to inhibit *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas putida*, and *Pseudomonas aeruginosa*. These extracts also contained coumarin compounds that destroyed cell membranes and prevented biofilm formation. *P. officinalis* inhibited *Bacillus cereus* and *P. aeruginosa*. The test samples of *S. vulgaris* contained anthocyanins and organic acids that served as natural preservatives while inhibiting *Candida albicans* and *E. coli*. Siberian *H. sibiricum*, *P. officinalis*, and *S. vulgaris* proved to contain a wide range of bioactive compounds that could be used to develop new natural antiseptic and antimicrobial drugs. Despite the confirmed antimicrobial activity, the extracts of these plants require further research to be used in the food industry. So far, their safety status, stability, effect on food sensory profile, and interaction with other ingredients remain unknown.

Keywords. Plant raw material, *Pulmonaria officinalis*, *Heracleum sibiricum*, *Syringa vulgaris*, antimicrobial activity, aqueous-alcohol extract, microbial pathogens

Funding. The research was supported by the Russian Science Foundation, grant no. 23-16-00113. It was conducted on the premises of the Central R&D Center for Instrumental Biotechnologies, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia.

For citation: Lutz VA, Harlov SYu, Velichkovich NS, Proskuryakova LA, Ostapova EV, et al. Antimicrobial Properties of Siberian Wild Plant Extracts: *Pulmonaria officinalis*, *Heracleum sibiricum*, and *Syringa vulgaris*. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3):673–686. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2597>

Введение

Пищевая промышленность сталкивается с проблемой обеспечения безопасности пищевых продуктов, предотвращая порчу, вызываемую патогенными микро-

организмами, без ущерба для их питательных и органолептических характеристик [1, 2]. Продукты, испорченные патогенными микроорганизмами, ведут к экономическим потерям и образованию отходов [3]. Ситуация

усугубляется развитием резистентности микроорганизмов к традиционным противомикробным средствам, создавая глобальную угрозу для здоровья населения из-за снижения эффективности препаратов и роста заболеваемости и смертности от инфекций [4, 5].

Микробные биопленки играют ключевую роль в пищевой сфере, так как питательные вещества на рабочих поверхностях способствуют росту и колонизации микроорганизмов [5]. Биопленки, образующиеся в таких условиях, более устойчивы к традиционным методам дезинфекции, что затрудняет их уничтожение [6]. Кроме того, они могут привести к коррозии оборудования, ухудшению его эксплуатационных характеристик и повышению риска загрязнения конечного продукта [5, 6].

В условиях растущей микробной резистентности к существующим методам борьбы, необходимо искать и исследовать новые эффективные источники антибактериальных компонентов для обеспечения безопасности пищевых продуктов. Традиционные синтетические антибиотики и консерванты имеют ряд недостатков: узкий спектр действия на микроорганизмы [7], угнетение симбиотической микрофлоры [8], быстрая адаптация патогенов к препарату [9] и негативное восприятие потребителями, предпочитающими натуральные продукты [10]. Синтетические пищевые добавки могут оказывать негативное воздействие на здоровье человека, органолептические свойства и питательную ценность продуктов, а также на окружающую среду [11, 12].

Растения являются естественным источником биологически активных соединений (органические кислоты, эфирные масла, фенольные соединения), обладающих антимикробной активностью. Эта активность обусловлена воздействием на ключевые структуры бактериальной клетки, включая экзополисахариды, мембранные белки и липидный слой клеточной стенки [7, 13–20]. Такие соединения, как правило, обладают низкой токсичностью [16–20] и способствуют оптимальному воздействию на организм [7]. Препараты на основе экстрактов растений представляют интерес в качестве перспективных средств борьбы с бактериальными биопленками [21, 22], так как они являются альтернативой традиционным консервантам для безалкогольных напитков, а также компонентом в «активной» упаковке продуктов.

Учитывая преимущества экстрактов высших растений, в качестве источника биологически активных соединений, обладающих антимикробными свойствами, рассматривали флору Кузбасса (Западная Сибирь, Россия). Территория региона отличается резко континентальным климатом, характеризующимся холодными длинными зимами, резкими суточными колебаниями температуры и высоким уровнем техногенного воздействия на природу со стороны горнодобывающих, металлургических и химических предприятий [23]. В результате у местных растений развивается устойчивость к неблагоприятным условиям среды, и они

накапливают вещества с выраженными антибактериальными и защитными свойствами, что делает их ценными объектами для научных исследований [24].

По данным ботанических исследований, в Кузбассе произрастает более 1600 видов высших растений [25], что, в контексте быстрого развития фитохимии, повышает научный интерес к исследованию свойств экстрактов местных растений. *Heracleum sibiricum* L. представляет собой вид, широко распространенный по всей средней полосе России, а также в Центральной Европе, Предкавказье, Западной Сибири, Казахстане и Монголии [16]. Следует подчеркнуть, что борщевик сибирский (*H. sibiricum*) принципиально отличается от инвазивного борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi*), который подлежит уничтожению в некоторых регионах РФ. *H. sibiricum* содержит значительно меньшее количество фотосенсибилизирующих фурукумаринов и используется в народной медицине как относительно безопасное средство – его традиционное применение подтверждено исследованиями на Балканах и в Восточной Европе [26]. Высокие адаптационные способности *H. sibiricum* к неблагоприятным условиям среды Сибири способствуют накоплению в нем веществ с выраженными антибактериальными и защитными свойствами, что делает его перспективным объектом для научных исследований как источника природных антимикробных соединений. В научной литературе рассмотрены химический состав масла, неполный химический состав после экстракции растения, а также обнаружены полифенолы, эфирные масла, флавоноиды, кумарины, ответственные за антимикробные свойства. Борщевик сибирский обладает высоким потенциалом для разных видов промышленности благодаря своей высокой скорости размножения, обильной биомассе и способности к адаптации. Несмотря на наличие предварительных данных о химическом составе этого растения его антимикробные свойства ранее не изучались. По данным фармакологических исследований *Pulmonaria officinalis* L. является источником полисахаридов и биологически активных веществ, обладающих противовоспалительным, геропротекторными, отхаркивающими и антибактериальными свойствами. Сирингин, выделенный из *Syringa vulgaris* L., применяется в медицине как аналог элеутерококка [27–30].

Целью настоящего исследования являлось изучение *in vitro* антимикробных свойств образцов экстрактов растений Кемеровской области – Кузбасса (Западная Сибирь, Россия), перспективных для использования в разработке новых природных антисептических и антимикробных препаратов.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования выступили образцы экстрактов, приготовленных из листовой или цветковой части малоизученных растений, собранных в вегетационный период 2023 г. в д. Пугачи, д. Журавли, п. Металлплощадка (Кемеровская область – Кузбасс,

Россия): листья борщевика (*Pulmonaria officinalis* L.) и медуницы (*Heracleum sibiricum* L.), а также цветения и листья сирени (*Syringa vulgaris* L.) (рис. 1). Эти растения, распространенные на территории Кузбасса, традиционно используются в медицине как антисептические, противовоспалительные, заживляющие и диуретические средства [27–29], что предполагает наличие в них биологически активных веществ с антимикробными свойствами.

Собранные растительные материалы промывали, измельчали и высушивали при комнатной температуре в хорошо проветриваемом помещении [31], а затем при 50 °С до достижения рекомендуемой влажности. Высушенное растительное сырье измельчали до размера частиц 1,2 мм, что обеспечивает максимальное увеличение поверхности соприкосновения с экстрагентом и предотвращает чрезмерное вымывание балластных веществ. Образцы хранились в пакетах в сухом, прохладном месте в Лаборатории биотестирования природных нутрицевтиков Кемеровского государственного университета (КемГУ, г. Кемерово, Россия). Морфологическая идентификация растений проведена специалистами Центра сохранения биоразнообразия Института биологии, экологии и природных ресурсов КемГУ (протокол 8/23).

Для исследования в качестве тест-культур применялись штаммы тестовых патогенных и условно-патогенных микроорганизмов: *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Pseudomonas putida*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, предоставленные Центром коллективного пользования Института биотехнологии КемГУ.

Получение водно-спиртовых экстрактов. Экстракцию проводили методом настаивания измельченного растительного сырья в течение 72 ч при комнатной температуре с использованием водно-этанольного раствора в соотношении 1:50 (масса сырья:объем растворителя) [32]. Водно-спиртовую смесь готовили из этилового спирта (95 %), разводя его дистиллированной водой до требуемых концентраций для каждого растения (табл. 1).

Концентрации водно-этанольных растворов для экстракции исследуемого сырья подбирали на основе литературных данных, предварительных экспериментальных наблюдений с учетом показателей антиоксидантной активности экстрактов по методу с ABTS⁺. Основное внимание при подборе условий экстракции уделялось извлечению полифенольных соединений, обладающих выраженными антиоксидантными и антимикробными свойствами [33]. Отбор образцов с высокой антиоксидантной активностью для исследования их антимикробных свойств обоснован тем, что полифенольные соединения способны ингибировать рост микроорганизмов. Это происходит за счет нарушения целостности бактериальных мембран, подавления ферментативной активности и замедления метаболических процессов патогенов [34].

После экстрагирования образцы экстракта выдерживали при температуре 8–10 °С в течение 2 суток, затем фильтровали и хранили при температуре от 15 до 25 °С [35]. Выдержка при пониженной температуре способствует осаждению балластных веществ, что повышает чистоту полученного экстракта.

Анализ метаболомного состава экстрактов методом ВЭЖХ. Для изучения метаболомного состава образцов экстрактов растений применяли метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектором (диодно-матричный детектор). Данный процесс проводили на хроматографе LC-20AB «Shimadzu»

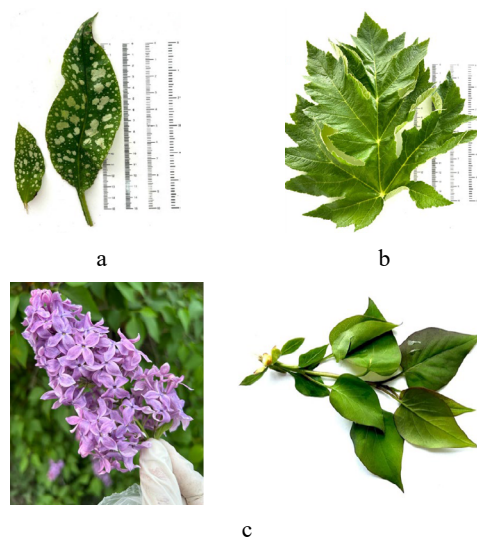


Рисунок 1. Изучаемые растения: а – *Pulmonaria officinalis* L., б – *Heracleum sibiricum* L., в – *Syringa vulgaris* L. (фото из коллекции КемГУ)

Figure 1. Appearance of Siberian plants under study: а – *Pulmonaria officinalis* L., б – *Heracleum sibiricum* L., в – *Syringa vulgaris* L. (Kemerovo State University collection)

Таблица 1. Концентрации, %, образцов спиртовых экстрактов исследуемых растений

Table 1. Concentrations of alcohol extracts, %

Растение	Образец				
	A	B	C	D	K
<i>Pulmonaria officinalis</i> L.	55	55×10^{-1}	55×10^{-2}	55×10^{-3}	55
<i>Syringa vulgaris</i> L.	40	40×10^{-1}	40×10^{-2}	40×10^{-3}	40
	70	70×10^{-1}	70×10^{-2}	70×10^{-3}	70
<i>Heracleum sibiricum</i> L.	40	40×10^{-1}	40×10^{-2}	40×10^{-3}	40
	60	60×10^{-1}	60×10^{-2}	60×10^{-3}	60

Примечание: А – исходный экстракт; В – 10-кратное разведение исходного экстракта; С – 100-кратное разведение исходного экстракта; D – 1000-кратное разведение исходного экстракта; К – контроль (этиловый спирт).

Note: A – original extract; B – original extract, 10-fold dilution; C – original extract, 100-fold dilution; D – original extract, 1,000-fold dilution; K – control (ethyl alcohol).

Prominence (Япония) с бинарным насосом, диодно-матричным детекторе SPD-M20A, колонке Zorbax 300SB-C18 4.6*250mm 5µm (Agilent). Разделение осуществлялось при температуре 40 °C в режиме градиентного элюирования. Подвижная фаза: элюент А – 0,1 % трифторуксусной кислоты в бидистиллированной воде, В – ацетонитрил, скорость потока 1 мл/мин, аналитическая длина волны – 254, 280 и 325 нм [36, 37]. Идентификацию компонентов выполняли по времени удерживания и спектрам индивидуальных стандартов. Концентрацию соединений рассчитывали по калибровочным уравнениям. Погрешность определения концентрации в ходе эксперимента составляла 3–5 %.

Получение тест-культур. Активация культур микроорганизмов осуществлялась в соответствии с паспортом для каждого штамма микроорганизма. Суспензию исследуемых культур условно-патогенных и патогенных микроорганизмов готовили согласно ГОСТ Р ИСО 16256-2015 (стандарт мутности Мак-Фарланда 0,5, BBL, США). Затем 1 мл суспензии высевали на чашки Петри (Перинт, Россия) с застывшей средой МПА (агар бактериологический ГОСТ 17206–96; мясо-пептонный бульон ГОСТ 20730-75; пептон сухой ферментативный ГОСТ 13805-76*; натрий хлористый ГОСТ 4233-77 (Химлабприбор, Россия); дистиллированная вода ГОСТ Р 58144-2018), где ее равномерно распределяли по поверхности чашки шпателем Дригальского, оставляли на 15 мин, после чего использовали в исследованиях.

Изучение антимикробной активности образцов экстрактов растений. Исследование антимикробной активности проводили диско-диффузионным методом согласно МУК 4.2.1890-2004. В чашке Петри с тест-культурой на поверхность среды помещали бумажные диски, пропитанные исследуемыми образцами экстрактов, предварительно упаренными на кипящей водяной бане ЭКРОС ПЭ-4310 (Экротех, Россия) в течение 15–20 мин, а также их 10-, 100- и 1000-кратными разведениями.

Для определения антимикробной активности применяли данные разведения, поскольку они соответствуют стандартной методике скрининга антимикробной активности соединений. Этот диапазон разведений позволяет определить минимальные эффективные дозы экстрактов против тестируемых микроорганизмов. Контролем служил чистый растворитель – этанол различной концентрации.

После этого чашки помещали в термостат электрический сушевоздушный охлаждающий ТСО-1/80 СПУ (Смоленское СКТБ СПУ, Россия) и инкубировали при температуре, оптимальной для отдельного штамма в течение 18–24 ч. Учет результатов эксперимента проводили путем измерения зоны задержки роста культуры вокруг дисков. Измерение производили с точностью до 0,1 мм с помощью штангенциркуля.

Статистический анализ. Все эксперименты выполнялись в трех повторностях. Для анализа статистичес-

ких данных использовали программу Statistica (StatSoft, 10.0, USA). Однородность выборок, полученных данных проверяли с помощью одномоментного парного критерия Стьюдента. Значимость влияния изучаемых образцов экстрактов растений на активность микроорганизмов тест-культур оценивали проведением дисперсионного анализа (критерий Тьюки). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В образцах экстракта соцветий *Syringa vulgaris* L. (70 %) идентифицированы рутин, астрагалин, неохлорогеновая, а также 2,5-дигидроксibenзойная, кумаровая и феруловая кислоты (табл. 2, рис. 2).

В составе образцов экстракта листьев *S. vulgaris* (40 %) (табл. 2, рис. 3) выявлено высокое содержание рутина (6644,40 мкг/кг), неохлорогеновой кислоты (239,12 мкг/кг), изокверцетина (931,00 мкг/кг) и астрагалина (392,00 мкг/кг). Установлены существенные различия в количестве и концентрации химических соединений образцов экстрактов *S. vulgaris*, полученных из листьев и цветков.

Фитохимические исследования (табл. 2, рис. 4) образцов экстракта листьев *Heracleum sibiricum* L. (60 %) позволили обнаружить рутин, хлорогеновую кислоту, розмариновую кислоту и астрагалин. Отмечено, что фенольные соединения содержались в значительном количестве. Содержание рутина в образцах достигало 2479,40 мкг/кг, хлорогеновой кислоты – 1752,24 мкг/кг, розмариновой кислоты – 339,08 мкг/кг и астрагалина – 482,16 мкг/кг. Эмпирические данные свидетельствуют о незначительном содержании в экстракте изокверцетина, феруловой, кумаровой, протокатехиновой, неохлорогеновой и 2,5-дигидроксibenзойной кислот. По спектрам поглощения в экстракте также идентифицированы производные кверцетина (1228,53 мкг/кг) и производные кемпферола (435,12 мкг/кг).

Результаты фитохимического анализа (табл. 2, рис. 5) экстракта листьев *H. sibiricum* (40 %) позволили выявить, что в данных образцах содержание 2,5-дигидроксibenзойной кислоты в 12,4 раза превышало ее содержание в образцах экстракта *H. sibiricum* (60 %) и составляло 1038,80 мкг/кг. Также зафиксирована большая концентрация производных кверцетина (4587,58 мкг/кг), по сравнению с образцами экстракта *H. sibiricum* (60 %).

В образцах экстрактов листьев *H. sibiricum* (40 %) в небольших количествах идентифицированы морин, изокверцетин и астрагалин, а также розмариновая, неохлорогеновая, протокатехиновая, кофейная кислоты. Установлено, что в них присутствовали рутин (4076,80 мкг/кг) и хлорогеновая кислота (3077,20 мкг/кг).

Исследование образцов экстракта *Pulmonaria officinalis* L. (табл. 2, рис. 6) выявило, что он обогащен розмариновой, хлорогеновой и кофейной кислотами. Отмечено высокое содержание розмариновой кислоты (4255 мкг/кг), хлорогеновой – 448,50 мкг/кг,

Таблица 2. Содержание биологически активных веществ, мкг/кг, в образцах экстрактов растений

Table 2. Biologically active substances in the extracts, µg/kg

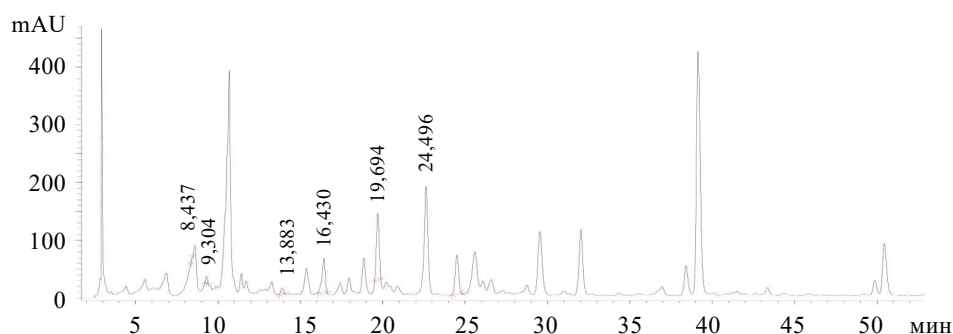
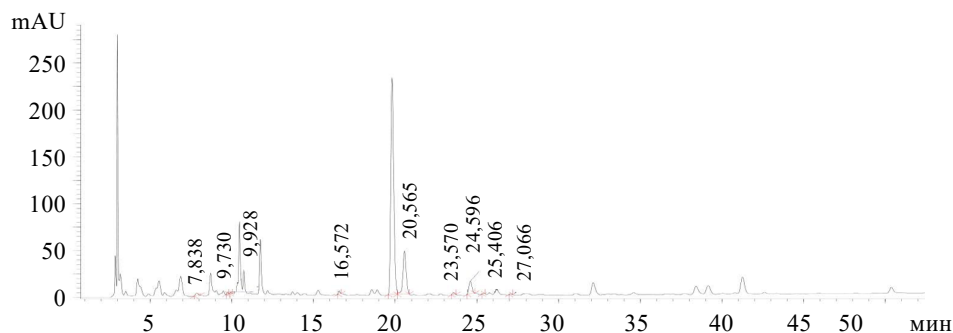
Биологически активное вещество	Время удерж., мин	Образцы экстрактов*				
		I	II	III	IV	V
Протокатехиновая кислота	5,87	–	–	–	56,84	78,40
Неохлорогеновая кислота	7,80	84,28	239,12	–	72,52	28,22
2,5-дигидроксibenзойная кислота	9,70	68,01	146,61	31,51	84,28	1038,80
Катехин	9,90	–	76,44	–	–	–
Хлорогеновая кислота	10,50	–	–	448,50	1752,24	3077,20
Кофейная кислота	10,80	–	–	292,10	127,40	129,36
Кумаровая кислота	13,90	129,36	–	–	90,16	–
Феруловая кислота	16,40	635,04	88,20	–	64,68	33,32
Рутин	19,70	1515,08	6644,40	–	2479,40	4076,80
Гиперозид	19,80	–	–	39,10	–	–
Изокверцетин	20,60	–	931,00	108,10	25,48	176,40
Производные кверцетина ¹ , сумма	–	–	55,47	230,00	1228,53	4587,58
Астрагалин	24,50	1230,88	392,00	57,50	482,16	450,80
Производные кемпферола ² , сумма	–	–	–	–	435,12	–
Розмариновая кислота	28,80	–	–	4255,00	339,08	94,08
Морин	32,20	–	–	–	–	29,40

Примечание: I – соцветия *Syringa vulgaris* L. (70 %); II – листья *S. vulgaris* (40 %); III – листья *Pulmonaria officinalis* L. (55 %); IV – листья *Heracleum sibiricum* L. (60 %); V – листья *H. sibiricum* (40 %).

¹посчитано на изокверцетин; ²посчитано на астрагалин; * приведены средние значения для образцов.

Note: I – *Syringa vulgaris* L., flowers (70%); II – *S. vulgaris*, leaves (40%); III – *Pulmonaria officinalis* L., leaves (55%); IV – *Heracleum sibiricum* L., leaves (60%); V – *H. sibiricum*, leaves (40%).

¹isoquercetin scale; ²astragalin scale; *mean values.

Рисунок 2. Хроматограмма образца водно-спиртового экстракта (70 %) соцветий *Syringa vulgaris* L.Figure 2. Aqueous-alcoholic extract (70%) of *Syringa vulgaris* L. flowers: chromatogramРисунок 3. Хроматограмма образца водно-спиртового экстракта (40 %) листьев *Syringa vulgaris* L.Figure 3. Aqueous-alcoholic extract (40%) of *Syringa vulgaris* L. leaves: chromatogram

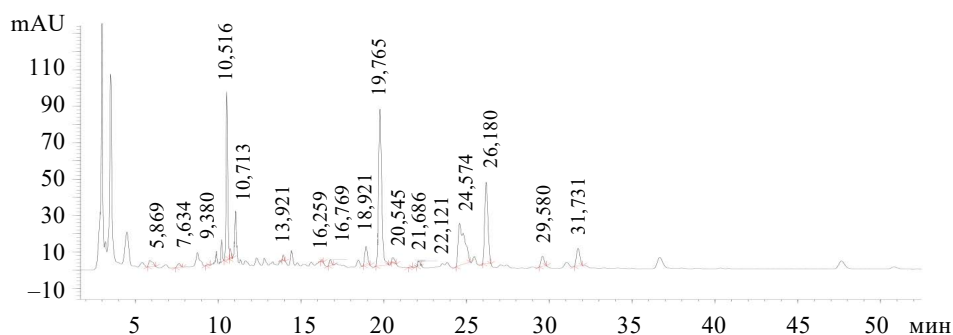


Рисунок 4. Хроматограмма образца водно-спиртового экстракта (60 %) листьев *Heracleum sibiricum* L.

Figure 4. Aqueous-alcoholic extract (60%) of *Heracleum sibiricum* L. leaves: chromatogram

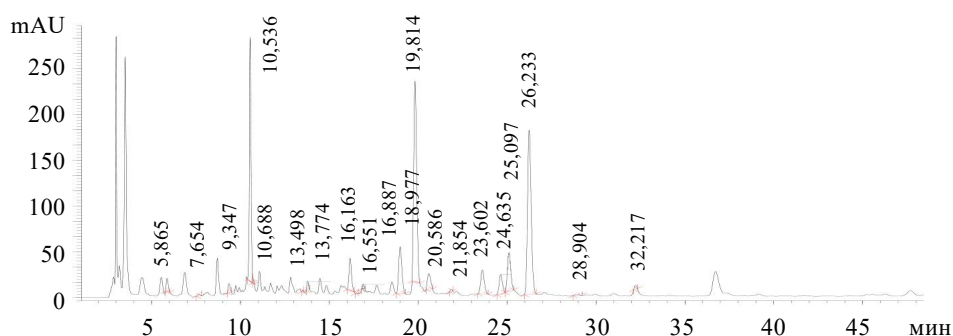


Рисунок 5. Хроматограмма образца водно-спиртового экстракта (40 %) листьев *Heracleum sibiricum* L.

Figure 5. Aqueous-alcoholic extract (40%) of *Heracleum sibiricum* L. leaves: chromatogram

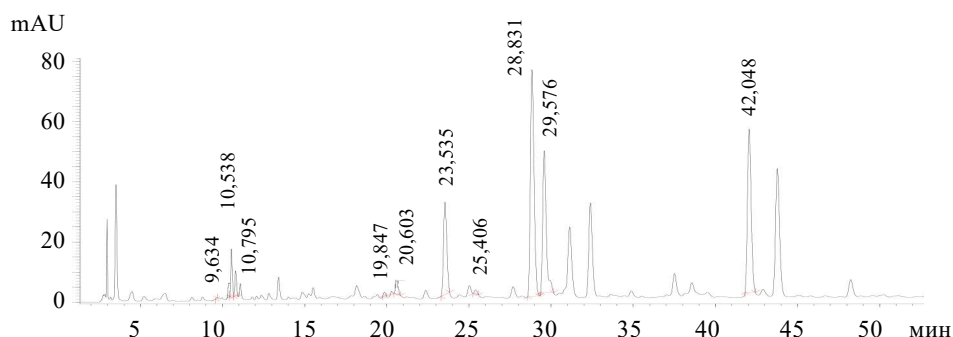


Рисунок 6. Хроматограмма образца водно-спиртовой экстракта (55 %) листьев *Pulmonaria officinalis* L.

Figure 6. Aqueous-alcoholic extract (55%) of *Pulmonaria officinalis* L. leaves: chromatogram

а кофейной – 292,10 мкг/кг. Кроме того, в экстракте *P. officinalis* обнаружено небольшое количество изо-кверцетина, астрагалина, 2,5-дигидроксibenзойной кислоты и производных кверцетина.

Далее рассматривали те же образцы на наличие антимикробных свойств. Полученные результаты приведены в таблицах 3–7. В качестве контроля использовались водно-спиртовые растворы с концентрациями, соответствующими для каждого экстракта (табл. 1).

Согласно результатам исследования (табл. 3), наиболее чувствительными штаммами к образцам 55 % экстракта медуницы лекарственной являлись куль-

туры *Bacillus cereus* (чистый экстракт) и *Pseudomonas aeruginosa* (чистый экстракт и 10-кратное разведение). При этом наиболее заметные антимикробные свойства в отношении культуры *B. cereus* проявляли образцы чистого экстракта (55 %).

В таблице 4 представлены результаты антимикробных свойств 40 % водно-спиртового экстракта листьев сирени обыкновенной. В отношении остальных культур антимикробная активность не наблюдалась. Максимальная зона ингибирования роста отмечена у образцов чистого экстракта (40 %) сирени в отношении *Candida albicans* ($11,00 \pm 0,60$ мм).

Таблица 3. Антимикробные свойства (зоны ингибирования роста, мм) образцов экстракта листьев *Pulmonaria officinalis* L. (55 %)

Table 3. Antimicrobial properties of *Pulmonaria officinalis* L. leaf extract (55%): growth inhibition zones, mm

Тест-культуры	Образцы				
	A	B	C	D	K
<i>Escherichia coli</i>	8,00 ± 0,30 ^b	8,00 ± 0,20 ^b	6,00 ± 0,10 ^c	6,00 ± 0,30 ^c	7,00 ± 0,60 ^a
<i>Candida albicans</i>	7,00 ± 0,90 ^b	7,00 ± 0,40 ^b	6,00 ± 0,60 ^c	7,00 ± 0,10 ^b	8,00 ± 0,60 ^a
<i>Bacillus cereus</i>	10,00 ± 0,30 ^b	8,00 ± 0,10 ^a	7,00 ± 0,50 ^c	6,00 ± 0,00 ^d	8,00 ± 0,60 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10,00 ± 0,10 ^b	10,00 ± 0,70 ^b	8,00 ± 0,10 ^c	8,00 ± 0,10 ^c	9,00 ± 0,60 ^a
<i>Enterococcus faecalis</i>	9,00 ± 0,10 ^a	7,00 ± 0,30 ^b	8,00 ± 0,20 ^c	8,00 ± 0,30 ^c	9,00 ± 0,60 ^a
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8,00 ± 0,10 ^a	8,00 ± 0,20 ^a	7,00 ± 0,40 ^b	6,00 ± 0,30 ^c	8,00 ± 0,60 ^a
<i>Bacillus subtilis</i>	7,00 ± 0,90 ^b	8,00 ± 0,30 ^a	9,00 ± 0,60 ^c	8,00 ± 0,70 ^a	8,00 ± 0,60 ^a
<i>Pseudomonas putida</i>	6,00 ± 0,60 ^b	8,00 ± 0,70 ^a	7,00 ± 0,40 ^c	6,00 ± 0,10 ^b	8,00 ± 0,60 ^a

Примечание: А – исходный экстракт, В – 10-кратное разведение исходного экстракта, С – 100-кратное разведение исходного экстракта, D – 1000-кратное разведение исходного экстракта, К – контроль (этиловый спирт). Значения в строках, выделенные одной буквой, не имеют значимого отличия ($p > 0,05$) по тесту Тьюки.

Note: A – original extract; B – original extract, 10-fold dilution; C – original extract, 100-fold dilution; D – original extract, 1000-fold dilution; K – control (ethyl alcohol). Values in rows with the same superscript are not significantly different ($p > 0.05$).

Таблица 4. Антимикробные свойства (зоны ингибирования роста, мм) образцов экстракта листьев *Syringa vulgaris* L. (40 %)

Table 4. Antimicrobial properties of *Syringa vulgaris* L. leaf extract (40%): growth inhibition zones, mm

Тест-культуры	Образцы				
	A	B	C	D	K
<i>Escherichia coli</i>	6,00 ± 0,40 ^a	6,00 ± 0,80 ^a	6,00 ± 0,20 ^a	6,00 ± 0,70 ^a	6,00 ± 0,30 ^a
<i>Candida albicans</i>	11,00 ± 0,60 ^b	7,00 ± 0,80 ^c	6,00 ± 0,30 ^a	6,00 ± 0,60 ^a	6,00 ± 0,70 ^a
<i>Bacillus cereus</i>	6,00 ± 0,80 ^a	6,00 ± 0,40 ^a	6,00 ± 0,20 ^a	6,00 ± 0,80 ^a	6,00 ± 0,60 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,00 ± 0,50 ^a	6,00 ± 0,20 ^a	6,00 ± 0,50 ^a	6,00 ± 0,80 ^a	6,00 ± 0,70 ^a
<i>Enterococcus faecalis</i>	8,00 ± 0,40 ^b	7,00 ± 0,80 ^c	6,00 ± 0,50 ^a	6,00 ± 0,60 ^a	6,00 ± 0,20 ^a
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7,00 ± 0,30 ^b	7,00 ± 0,60 ^b	7,00 ± 0,10 ^b	6,00 ± 0,50 ^a	6,00 ± 0,20 ^a
<i>Bacillus subtilis</i>	7,00 ± 0,30 ^b	6,00 ± 0,10 ^a	6,00 ± 0,30 ^a	6,00 ± 0,60 ^a	6,00 ± 0,40 ^a
<i>Pseudomonas putida</i>	6,00 ± 0,20 ^a	6,00 ± 0,40 ^a	6,00 ± 0,50 ^a	6,00 ± 0,20 ^a	6,00 ± 0,70 ^a

Примечание: А – исходный экстракт, В – 10-кратное разведение исходного экстракта, С – 100-кратное разведение исходного экстракта, D – 1000-кратное разведение исходного экстракта, К – контроль (этиловый спирт). Значения в строках, выделенные одной буквой, не имеют значимого отличия ($p > 0,05$) по тесту Тьюки.

Note: A – original extract; B – original extract, 10-fold dilution; C – original extract, 100-fold dilution; D – original extract, 1000-fold dilution; K – control (ethyl alcohol). Values in rows with the same superscript are not significantly different ($p > 0.05$).

Таблица 5. Антимикробные свойства (зоны ингибирования роста, мм) образцов экстракта соцветий *Syringa vulgaris* L. (70 %)

Table 5. Antimicrobial properties of *Syringa vulgaris* L. flower extract (70%): growth inhibition zones, mm

Тест-культуры	Образцы				
	A	B	C	D	K
<i>Escherichia coli</i>	10,00 ± 0,20 ^b	9,00 ± 0,80 ^c	9,00 ± 0,20 ^c	8,00 ± 0,70 ^a	8,00 ± 0,60 ^a
<i>Candida albicans</i>	9,00 ± 0,30 ^a	7,00 ± 0,70 ^b	7,00 ± 0,50 ^b	6,00 ± 0,30 ^c	9,00 ± 0,60 ^a
<i>Bacillus cereus</i>	8,00 ± 0,30 ^a	7,00 ± 0,80 ^b	6,00 ± 0,40 ^c	6,00 ± 0,20 ^c	8,00 ± 0,60 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7,00 ± 0,20 ^b	6,00 ± 0,60 ^c	6,00 ± 0,30 ^c	6,00 ± 0,20 ^c	8,00 ± 0,60 ^a
<i>Enterococcus faecalis</i>	8,00 ± 0,10 ^a	7,00 ± 0,60 ^b	7,00 ± 0,40 ^b	7,00 ± 0,20 ^b	8,00 ± 0,60 ^a
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7,00 ± 0,30 ^a	7,00 ± 0,60 ^a	7,00 ± 0,10 ^a	6,00 ± 0,50 ^b	7,00 ± 0,60 ^a
<i>Bacillus subtilis</i>	7,00 ± 0,50 ^b	6,00 ± 0,40 ^c	6,00 ± 0,30 ^c	6,00 ± 0,30 ^c	8,00 ± 0,60 ^a
<i>Pseudomonas putida</i>	6,00 ± 0,50 ^b	6,00 ± 0,70 ^b	6,00 ± 0,20 ^b	6,00 ± 0,80 ^b	10,00 ± 0,60 ^a

Примечание: А – исходный экстракт, В – 10-кратное разведение исходного экстракта, С – 100-кратное разведение исходного экстракта, D – 1000-кратное разведение исходного экстракта, К – контроль (этиловый спирт). Значения в строках, выделенные одной буквой, не имеют значимого отличия ($p > 0,05$) по тесту Тьюки.

Note: A – original extract; B – original extract, 10-fold dilution; C – original extract, 100-fold dilution; D – original extract, 1000-fold dilution; K – control (ethyl alcohol). Values in rows with the same superscript are not significantly different ($p > 0.05$).

Таблица 6. Антимикробные свойства (зоны ингибирования роста, мм) образцов экстракта листьев *Heracleum sibiricum* L. (40 %)

Table 6. Antimicrobial properties of *Heracleum sibiricum* L. leaf extract (40%): growth inhibition zones, mm

Тест-культуры	Образцы				
	A	B	C	D	K
<i>Escherichia coli</i>	10,00 ± 0,60 ^b	9,00 ± 0,50 ^c	8,00 ± 0,80 ^d	8,00 ± 0,20 ^d	6,00 ± 0,30 ^a
<i>Candida albicans</i>	6,00 ± 0,30 ^a	6,00 ± 0,50 ^a	6,00 ± 0,80 ^a	6,00 ± 0,90 ^a	6,00 ± 0,70 ^a
<i>Bacillus cereus</i>	8,00 ± 0,40 ^b	7,00 ± 0,80 ^c	7,00 ± 0,60 ^c	7,00 ± 0,10 ^c	6,00 ± 0,60 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7,00 ± 0,50 ^b	7,00 ± 0,40 ^b	6,00 ± 0,20 ^a	6,00 ± 0,80 ^a	6,00 ± 0,70 ^a
<i>Enterococcus faecalis</i>	8,00 ± 0,50 ^b	6,00 ± 0,60 ^a	6,00 ± 0,30 ^a	6,00 ± 0,50 ^a	6,00 ± 0,20 ^a
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8,00 ± 0,40 ^b	7,00 ± 0,20 ^c	7,00 ± 0,70 ^c	6,00 ± 0,70 ^a	6,00 ± 0,20 ^a
<i>Bacillus subtilis</i>	8,00 ± 0,50 ^b	7,00 ± 0,40 ^c	6,00 ± 0,70 ^a	6,00 ± 0,90 ^a	6,00 ± 0,40 ^a
<i>Pseudomonas putida</i>	9,00 ± 0,50 ^b	7,00 ± 0,70 ^c	7,00 ± 0,90 ^c	6,00 ± 0,30 ^a	6,00 ± 0,70 ^a

Примечание: А – исходный экстракт, В – 10-кратное разведение исходного экстракта, С – 100-кратное разведение исходного экстракта, D – 1000-кратное разведение исходного экстракта, К – контроль (этиловый спирт). Значения в строках, выделенные одной буквой, не имеют значимого отличия ($p > 0,05$) по тесту Тьюки.

Note: A – original extract; B – original extract, 10-fold dilution; C – original extract, 100-fold dilution; D – original extract, 1000-fold dilution; K – control (ethyl alcohol). Values in rows with the same superscript are not significantly different ($p > 0.05$).

Таблица 7. Антимикробные свойства (зоны ингибирования роста, мм) образцов экстракта листьев *Heracleum sibiricum* L. (60 %)

Table 7. Antimicrobial properties of *Heracleum sibiricum* L. leaf extract (60%): growth inhibition zones, mm

Тест-культуры	Образцы				
	A	B	C	D	K
<i>Escherichia coli</i>	10,00 ± 0,20 ^b	8,00 ± 0,50 ^c	7,00 ± 0,60 ^a	7,00 ± 0,80 ^a	7,00 ± 0,30 ^a
<i>Candida albicans</i>	6,00 ± 0,30 ^a	6,00 ± 0,50 ^a	6,00 ± 0,80 ^a	6,00 ± 0,90 ^a	6,00 ± 0,30 ^a
<i>Bacillus cereus</i>	7,00 ± 0,40 ^a	7,00 ± 0,80 ^a	7,00 ± 0,60 ^a	7,00 ± 0,80 ^a	7,00 ± 0,20 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,00 ± 0,50 ^b	8,00 ± 0,80 ^b	6,00 ± 0,30 ^a	6,00 ± 0,50 ^a	6,00 ± 0,10 ^a
<i>Enterococcus faecalis</i>	8,00 ± 0,30 ^a	7,00 ± 0,70 ^b	6,00 ± 0,50 ^c	6,00 ± 0,90 ^c	8,00 ± 0,30 ^a
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7,00 ± 0,10 ^b	6,00 ± 0,20 ^c	6,00 ± 0,40 ^c	6,00 ± 0,50 ^c	8,00 ± 0,90 ^a
<i>Bacillus subtilis</i>	7,00 ± 0,30 ^b	7,00 ± 0,40 ^b	6,00 ± 0,70 ^c	6,00 ± 0,30 ^c	8,00 ± 0,30 ^a
<i>Pseudomonas putida</i>	9,00 ± 0,30 ^b	7,00 ± 0,50 ^c	7,00 ± 0,30 ^c	6,00 ± 0,30 ^d	8,00 ± 0,20 ^a

Примечание: А – исходный экстракт, В – 10-кратное разведение исходного экстракта, С – 100-кратное разведение исходного экстракта, D – 1000-кратное разведение исходного экстракта, К – контроль (этиловый спирт). Значения в строках, выделенные одной буквой, не имеют значимого отличия ($p > 0,05$) по тесту Тьюки.

Note: A – original extract; B – original extract, 10-fold dilution; C – original extract, 100-fold dilution; D – original extract, 1000-fold dilution; K – control (ethyl alcohol). Values in rows with the same superscript are not significantly different ($p > 0.05$).

Наилучшие антимикробные свойства проявляли образцы чистого экстракта (70 %) сирени и все его разведения в отношении культуры *Escherichia coli* (табл. 4). Зона ингибирования роста составляла от 10,00 ± 0,20 до 8,00 ± 0,70 мм. Отсутствие антимикробных свойств наблюдалось в отношении *Pseudomonas putida*.

Наиболее выраженные антимикробные свойства обнаруживались у образцов экстракта (40 %) *H. sibiricum* и его разведений в отношении *E. coli* (табл. 6). Зона ингибирования роста культуры варьировалась от 8,00 ± 0,20 до 10,00 ± 0,60 мм. Стоит отметить, что образцы чистого экстракта также проявляли выраженную антимикробную активность в отношении штаммов: *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *P. putida*.

Наилучшей антимикробной активностью (табл. 7) обладали образцы чистого экстракта (60 %) борщевика

в отношении *E. coli*, *E. faecalis*, *P. putida* и *P. aeruginosa* (зона ингибирования роста составила 10,00 ± 0,20; 8,00 ± 0,30; 9,00 ± 0,30 и 8,00 ± 0,50 мм, соответственно). В отношении остальных штаммов как образцов экстракта, так и его разведений наблюдались либо средние, либо слабые антимикробные свойства.

Тестируемые образцы растительных экстрактов продемонстрировали различный спектр антибиотического воздействия на патогенные микроорганизмы. Чистые образцы экстрактов всех растений продемонстрировали высокую антибиотическую эффективность.

В данном исследовании образцы экстракта *P. officinalis* показали выраженные антимикробные свойства относительно штаммов *B. cereus* и *P. aeruginosa*. В работах [30, 38, 39] также подтвержден потенциал медуницы лекарственной, а именно против штамма *Staphylococcus aureus*, являющегося возбудителем респираторных,

дерматологических и пищевых токсикоинфекционных заболеваний. Экстракты медуницы лекарственной служат важным источником розмариновой кислоты и проантоцианидинов, а экстракты *P. officinalis* – полифенольных соединений, таких как 2,5-дигидроксibenзойная кислота, хлорогеновая кислота, кофейная кислота, гиперозид, изокверцетин, производные кверцетина, астрагалин, розмариновой кислоты, которые определяют их выраженные антибактериальные свойства [40]. Полученные образцы экстрактов *P. officinalis* характеризовались наибольшим содержанием розмариновой кислоты (4255,00 мкг/кг), по сравнению с другими исследованными образцами. Розмариновая кислота обладает широким спектром биологической активности, включая выраженное антимикробное действие. В работах [41, 42] продемонстрирован ее ингибирующий эффект в отношении *S. aureus* и *E. coli*, что подтверждает как полученные результаты, так и перспективность возможного использования данного соединения в качестве природного антимикробного агента.

Образцы экстрактов сирени обыкновенной проявили высокие ингибирующие свойства относительно штаммов *C. albicans* и *E. coli*. Расширение спектра антимикробной активности, вероятно, связано с изменением концентрации активных веществ в экстрактах различной крепости. Данные, приведенные другими исследователями [29, 43–46], подтверждают, что экстракты *S. vulgaris*, в частности, полученные из цветков и листьев, являются ценными источниками антоцианов, обладающих значительными антиоксидантными и антибактериальными свойствами в отношении патогенных, плесневых и фитопатогенных микроорганизмов. Антоцианы могут проникать в клетки бактерий и снижать активность ферментов щелочной фосфатазы и аденозинтрифосфатазы, нарушая работу бактериальной клетки. Высокое содержание в *S. vulgaris* органических кислот, таких как лимонная, яблочная и щавелевая, указывающих на наличие антимикробных свойств этого растения, позволяют использовать экстракты в пищевой промышленности в качестве натуральных консервантов.

Более того, в исследуемых образцах *S. vulgaris* обнаружено высокое содержание феруловой кислоты, рутина, изокверцетина и астрагалина – соединений, известных своими антимикробными свойствами. Феруловая кислота демонстрирует выраженную активность против широкого спектра патогенов, включая *E. coli*, *P. aeruginosa* и *Listeria monocytogenes*, за счет нарушения структуры клеточной стенки и повышения проницаемости мембраны [47]. Астрагалин, флавоноидный гликозид, ингибирует рост бактерий и грибов, включая *C. albicans*, нарушая целостность мембран и воздействуя на синтез нуклеиновых кислот. Также установлено, что он ослабляет способность клеток *C. albicans* к переходу в гифальную форму [48]. Рутин проявляет антимикробную активность против *P. aeruginosa* и MRSA, разрушая биопленки, снижая жизнеспособ-

ность клеток и нарушая выработку экзополисахаридов [49–50]. Изокверцетин, гликозид кверцетина, обладает антибактериальными и антигрибковыми свойствами, влияя на жизнедеятельность патогенов [51]. Совокупность этих данных позволяет утверждать, что биологически активные вещества, обнаруженные в образцах экстракта *S. vulgaris*, вносят значительный вклад в их антимикробный потенциал и могут рассматриваться как перспективные компоненты для создания натуральных антисептических средств.

Образцы экстракта борщевика проявили достаточно широкий спектр ингибирования (штаммы *E. coli*, *E. faecalis*, *P. putida* и *P. aeruginosa*). Некоторые исследования [27, 52–54] также подтверждают наличие бактерицидных свойств *H. sibiricum*, однако, по сравнению с грамотрицательными бактериями, грамположительные более чувствительны к эфирному маслу растения. *H. sibiricum* содержит большое количество кумариновых соединений, которые нарушают целостность клеточной мембраны, приводят к снижению синтеза внеклеточного экзополисахарида и одновременно ингибируют образование биопленки. Полученные фитохимические данные демонстрируют присутствие в экстрактах борщевика широкого спектра полифенольных соединений (хлорогеновой и розмариновой кислот, производных кверцетина и кемпферола, а также рутина и астрагалина), обладающих выраженными антибактериальными свойствами. Отметим, что именно экстракты борщевика содержали наибольшее разнообразие и концентрации полифенольных соединений, по сравнению с другими исследованными образцами, что может объяснять их более широкий спектр ингибирования патогенных микроорганизмов. Вероятнее всего, эти соединения, обеспечивая синергетическое действие, повышают эффективность экстрактов в борьбе с патогенными микроорганизмами.

Выводы

Проведено исследование, в котором изучены *in vitro* антимикробные свойства образцов экстрактов растений Кузбасса (*Heracleum sibiricum* L., *Pulmonaria officinalis* L., *Syringa vulgaris* L.). Установлено, что образцы экстрактов исследуемых растений обладали различной антимикробной активностью против ряда условно-патогенных микроорганизмов и микроскопических грибов. Образцы экстракта медуницы лекарственной (55 %) эффективно подавляли рост *Bacillus cereus* и *Pseudomonas aeruginosa*. Образцы экстракта сирени (40 %) проявили активность только против *Candida albicans*, а образцы экстракта сирени (70 %) – против *Escherichia coli*. Образцы экстрактов борщевика (40 %) и (60 %) продемонстрировали широкий спектр действия, ингибируя рост *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas putida* и *P. aeruginosa*, причем наибольшая активность наблюдалась у образцов чистого экстракта.

Проведенный фитохимический анализ определил, что высокая антимикробная активность экстрактов

растений может быть связана с содержанием биологически активных полифенольных соединений, включая флавоноиды (рутин, астрагалин, изокверцетин), фенольные кислоты (розмариновая, хлорогеновая, неохлорогеновая, феруловая, кумаровая, 2,5-дигидроксibenзойная) и производные кверцетина и кемпферола. Данные соединения известны своими выраженными антибактериальными, противогрибковыми и антиоксидантными свойствами. Механизмы их действия включают разрушение клеточной стенки бактерий, ингибирование ферментативной активности, предотвращение формирования биопленок, а также подавление окислительного стресса в клетках патогенов.

Полученные результаты подтверждают антимикробную активность образцов экстрактов исследованных растений, а также определяют направления необходимых дальнейших исследований возможности их применения в качестве средств борьбы с бактериальными биопленками, натуральных консервантов или компонентов в «активной» упаковки продуктов в зависимости от специфических патогенов, представляющих опасность. Данное исследование играет важную роль

в разработке новых природных антисептических и антимикробных препаратов, а также приносит вклад для дальнейшего использования природных ресурсов Кузбасса.

Критерии авторства

Все авторы в равной степени несут ответственность за полученные результаты исследований и рукопись.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

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

Conflict of interest

The authors declared no potential conflict of interest regarding the research, authorship, and / or publication of this article.

Список литературы / References

1. Shah RM, Jadhav SR. Plant-based antimicrobials and their role in food safety. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2023;7:1173052. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1173052>
2. Ермоленко З. М., Фурсова Н. К. Микробиологическая порча пищевых продуктов и перспективные направления борьбы с этим явлением. *Бактериология*. 2018. Т. 3. № 3. С. 46–57. [Ermolenko ZM, Fursova NK. Microbiological spoilage of food products and promising ways to combat this phenomenon. *Bacteriology*. 2018;3(3):46–57. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/YXAFAL>
3. Quintieri L, Koo OK, Caleb OJ. Fight against food waste: Combating contamination and spoilage. *Frontiers in Microbiology*. 2023;14:1265477. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1265477>
4. Ivanova S, Sukhikh S, Popov A, Shishko O, Nikonov I, *et al.* Medicinal plants: A source of phytobiotics for the feed additives. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2024;16:101172. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101172>
5. Winkelströter LK, Bezirtzoglou E, Tulini FL. Natural compounds and novel sources of antimicrobial agents for food preservation and biofilm control, volume II. *Frontiers in Microbiology*. 2024;15:1412881. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1412881>
6. Galié S, García-Gutiérrez C, Miguélez EM, Villar CJ, Lombó F. Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9:898. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00898>
7. Андреева И. С., Лобанова И. Е., Высочина Г. И., Соловьянова Н. А. Сравнительная оценка антимикробной активности некоторых перспективных лекарственных растений. *Растительный мир азиатской России: Вестник центрального сибирского ботанического сада СО РАН*. 2018. № 3. С. 91–99. [Andreeva IS, Lobanova IE, Vysochina GI, Solovyanova NA. Comparative assessment of antimicrobial activity of some promising medicinal plants. *The flora of Asian Russia: Bulletin of the Central Siberian Botanical Garden SB RAS*. 2018;(1):91–99. (In Russ.)]
8. Захаренко С. М. Современные подходы к профилактике антибиотик-ассоциированной супрессии микрофлоры желудочно-кишечного тракта. *Лечащий врач*. 2010. № 11. С. 68. [Zakharenko SM. Modern approaches to the prevention of antibiotic-associated suppression of the microflora of the gastrointestinal tract. *Lechaschi Vrach*. 2010;(11):68. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/SGGHCZ>
9. Avershina E, Shapovalova V, Shipulin G. Fighting antibiotic resistance in hospital-acquired infections: Current state and emerging technologies in disease prevention, diagnostics and therapy. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:707330. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.707330>
10. Федоренко Е. В., Коломиец Н. Д., Сычик С. И. Актуальные проблемы микробиологической безопасности пищевой продукции. *Гигиена и санитария*. 2016. Т. 95. № 9. С. 873–878. [Fedorenko EV, Kolomiets ND, Sychik SI. Actual problems of the microbiological safety of food products. *Hygiene and Sanitation*. 2016;95(9):873–878. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/WWULLX>

11. Nieto G, Martínez-Zamora L, Peñalver R, Marín-Iniesta F, Taboada-Rodríguez A, et al. Applications of plant bioactive compounds as replacers of synthetic additives in the food industry. *Foods*. 2024;13(1):47. <https://doi.org/10.3390/foods13010047>
12. Bangar SP, Chaudhary V, Thakur N, Kajla P, Kumar M, et al. Natural antimicrobials as additives for edible food packaging applications: A review. *Foods*. 2021;10(10):2282. <https://doi.org/10.3390/foods10102282>
13. Pinto L, Tapia-Rodríguez MR, Baruzzi F, Ayala-Zavala JF. Plant Antimicrobials for food quality and safety: Recent views and future challenges. *Foods*. 2023;12(12):2315. <https://doi.org/10.3390/foods12122315>
14. Babich O, Larina V, Krol O, Ulrikh E, Sukhikh S, et al. In vitro study of biological activity of *Tanacetum vulgare* extracts. *Pharmaceutics*. 2023;15(2):616. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020616>
15. Sukhikh S, Babich O, Prosekov A, Patyukov N, Ivanova S. Future of chondroprotectors in the treatment of degenerative processes of connective tissue. *Pharmaceutics*. 2020;13(9):220. <https://doi.org/10.3390/ph13090220>
16. Redondo-Blanco S, Fernández J, López-Ibáñez S, Miguélez EM, Villar CJ, et al. Plant phytochemicals in food preservation: Antifungal bioactivity: A review. *Journal of Food Protection*. 2020;83(1):163–171. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-163>
17. Ušjak L, Petrović S, Drobac M, Soković M, Stanojković T, et al. Essential oils of three cow parsnips – composition and activity against nosocomial and foodborne pathogens and food contaminants. *Food & Function*. 2017;8(1):278–290. <https://doi.org/10.1039/C6FO01698G>
18. Velichkovich NS, Dunchenko NI, Stepanova AA, Kozlova OV, Faskhutdinova ER, et al. The phytochemical composition of Kuzbass medicinal plants. *Foods and Raw Materials*. 2025;13(2):219–232. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2025-2-649>
19. Mishra R, Panda AK, De Mandal S, Shakeel M, Bisht SS, et al. Natural anti-biofilm agents: Strategies to control biofilm-forming pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11(JAN):566325. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.566325>
20. Culqui-Arce C, Mori-Mestanza D, Fernández-Jeri AB, Cruzalegui RJ, Zabarburú RCM, et al. Polymers derived from agro-industrial waste in the development of bioactive films in food. *Polymers*. 2025;17(3):408. <https://doi.org/10.3390/polym17030408>
21. Гаделева Х. К., Никитина А. А., Данилова О. А., Зайнуллин Р. А., Кунакова Р. В. и др. Исследование влияния растительных экстрактов на микробиологическую стойкость безалкогольных напитков. Пиво и напитки. 2011. № 1. С. 28–30. [Gadeleva HK, Nikitina AA, Danilova OA, Zainullin RA, Kunakova RV, et al. Influence of extracts of plants on microbiological firmness of soft drinks. *Beer and Drinks*. 2011;(1):28–30. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/NDZJWR>
22. Бурак Л. Ч., Сапач А. Н. Инновационная упаковка для пищевых продуктов. Научное обозрение. Технические науки. 2023. № 2. С. 50–57. [Burak LC, Sapach AN. Innovative food packaging. *Scientific review. Technical sciences*. 2023;2:50–57. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17513/srts.1434>
23. Железнов Я. А. Зонирование территории кемеровской области по уровню техногенной нагрузки с учетом экологического фактора. Известия иркутского государственного университета. Серия: науки о земле. 2021. Т. 35. С. 19–32. [Zheleznov YA. Zoning of the Kemerovo oblast based on the level of technogenic load and environmental factor. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series: Earth Sciences*. 2021;35:19–32. (In Russ.)] <https://doi.org/10.26516/2073-3402.2021.35.19>
24. Belashova OV, Kozlova OV, Velichkovich NS, Fokina AD, Yustratov VP, et al. A phytochemical study of the clover growing in Kuzbass. *Foods and Raw Materials*. 2024;12(1):194–206. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-1-599>
25. Роткина Е. Б., Шереметова С. А. Степная флора Кузбасса - систематическая структура. Достижения науки и техники АПК. 2020. Т. 34. № 11. С. 73–78. [Rodkina EB, Sheremetova SA. Steppe flora in the Kuznetsk basin: Systematic structure. *Achievements of science and technology in agro-industrial complex*. 2020;34(11):73–78.] <https://elibrary.ru/IMPDP5>
26. Ušjak L, Petrović S, Drobac M, Soković M, Stanojković T, et al. Essential oils of three cow parsnips – composition and activity against nosocomial and foodborne pathogens and food contaminants. *Food & Function*. 2017;8(1):278–290. <https://doi.org/10.1039/C6FO01698G>
27. Miladinović DL, Ilić BS, Mihajilov-Krstev TM, Nikolić DM, Cvetković OG, et al. Antibacterial activity of the essential oil of *Heracleum sibiricum*. *Natural Product Communications*. 2013;8(9):1309–1311. <https://doi.org/10.1177/1934578X1300800931>
28. Neagu E, Radu GL, Albu C, Paun G. Antioxidant activity, acetylcholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of *Pulmonaria officinalis* and *Centarium bellatum* extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2018;25(3):578–585. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.016>
29. Hanganu D, Niculae M, Ielciu I, Olah NK, Munteanu M, et al. Chemical profile, cytotoxic activity and oxidative stress reduction of different *Syringa vulgaris* L. extracts. *Molecules*. 2021;26(11):3104. <https://doi.org/10.3390/molecules26113104>
30. Chauhan S, Jaiswal V, Cho YI, Lee HJ. Biological activities and phytochemicals of Lungworts (genus *Pulmonaria*) focusing on *Pulmonaria officinalis*. *Applied Sciences*. 2022;12(13):6678. <https://doi.org/10.3390/app12136678>

31. Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов. Институт фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств. [Determining humidity of medicinal plant raw materials and medicinal plant preparations. Institute of Pharmacopoeia and Pharmacy Standardization. [cited 2025 Feb 25]. (In Russ.)] Available from: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-5/1-5-3/opredelenie-vlazhnosti-lekarstvennogo-rastitelnogo-syrya-i-lekarstvennykh-rastitelnykh-preparatov>
32. Frolova AS, Fokina AD, Milentyeva IS, Asyakina LK, Proskuryakova LA, *et al.* The biological active substances of *Taraxacum officinale* and *Arctium lappa* from the Siberian federal district. International Journal of Molecular Sciences. 2024;25(6):3263. <https://doi.org/10.3390/ijms25063263>
33. Бородин Е. Е., Козлова О. В., Богер В. Ю., Проскурякова Л. А., Юстратов В. П. Листья пасленовых – источники антиоксидантов и витамина D. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 1. С. 197–213. [Borodina EE, Kozlova OV, Boger VYu, Proskuryakova LA, Yustratov VP. *Solanaceae* leaves as are sources of antioxidants and vitamin D. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(1):197–213. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-1-2565>
34. Daglia M. Polyphenols as antimicrobial agents. Current Opinion in Biotechnology. 2012;23(2):174–181. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007>
35. Экстракты. Институт фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств. [Extracts. Institute of Pharmacopoeia and Pharmacy Standardization. [cited 2025 Feb 25]. (In Russ.)] Available from: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-4/1-4-1/ekstrakty/>
36. Zhu FD, Fu X, Ye HC, Ding HX, Gu LS, *et al.* Antibacterial activities of coumarin-3-carboxylic acid against *Acidovorax citrulli*. Frontiers in Microbiology. 2023;14:1207125. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1207125>
37. Бабич О. О., Бахтиярова А. Х., Кроль О. В., Самусев И. Г., Цибульников А. В. и др. Изучение антиоксидантных свойств экстрактов и биологически активных веществ, полученных из *Calluna vulgaris*. 2023. Т. 39. № 5. С. 70–81. [Babich O, Bakhtiyarova A, Krol O, Samusev I, Tsybulnikova AB, *et al.* Study of antioxidant properties of extracts and biologically active substances from *Calluna vulgaris*. Biotechnology. 2023;39(5):70–81. (In Russ.)] <https://doi.org/10.56304/S0234275823050022>
38. Krzyżanowska-Kowalczyk J, Pecio Ł, Młodoch J, Ludwiczuk A, Kowalczyk M. Novel phenolic constituents of *Pulmonaria officinalis* L. LC-MS/MS comparison of spring and autumn metabolite profiles. Molecules. 2018;23(9):2277. <https://doi.org/10.3390/molecules23092277>
39. Sadowska B, Wójcik-Bojek U, Krzyżanowska-Kowalczyk J, Kowalczyk M, Stochmal A, *et al.* The Pros and Cons of Cystic Fibrosis (CF) patient use of herbal supplements containing *Pulmonaria officinalis* L. extract: The evidence from an in vitro study on *Staphylococcus aureus* CF clinical isolates. Molecules. 2019;24(6):1151. <https://doi.org/10.3390/molecules24061151>
40. Krzyżanowska-Kowalczyk J, Kowalczyk M, Ponczek MB, Pecio Ł, Nowak P, *et al.* *Pulmonaria obscura* and *Pulmonaria officinalis* extracts as mitigators of peroxynitrite-induced oxidative stress and cyclooxygenase-2 inhibitors–in vitro and in silico studies. Molecules. 2021;26(3):631. <https://doi.org/10.3390/molecules26030631>
41. Шевчук О. М., Веляев Ю. О., Палий И. Н., Паштетская А. В., Солдатов Д. К. и др. Поиск новых растительных источников розмариновой кислоты. Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2024. № 150. С. 136–145. [Shevchuk OM, Velyaev YO, Paliy IN, Pashtetskaya AV, Soldatov DK, *et al.* Searching for new plant sources rosmariny acid. Bulletin of the State Nikitsky Botanical Gardens. 2024;(150):136–145. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/JGLTPC>
42. Iqbal H, Wright CL, Jones S, da Silva GR, McKillen J, *et al.* Extracts of *Sida cordifolia* contain polysaccharides possessing immunomodulatory activity and rosmarinic acid compounds with antibacterial activity. BMC Complementary Medicine and Therapies. 2022;22(1):1–17. <https://doi.org/10.1186/s12906-022-03502-7>
43. Gąsecka M, Krzyżmińska-Bródka A, Magdziak Z, Czuchaj P, Bykowska J. Phenolic compounds and organic acid composition of *Syringa vulgaris* L. Flowers and infusions. Molecules. 2023;28(13):5159. <https://doi.org/10.3390/molecules28135159>
44. Юдина Р. С., Гордеева Е. И., Шоева О. Ю., Тихонова М. А., Хлесткина Е. К. Антоцианы как компоненты функционального питания. Вавиловский журнал генетики и селекции. [Yudina RS, Gordeeva EI, Shoeva OYu, Tikhonova MA, Khlestkina EK. Anthocyanins as functional food components. Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2021;25(2):178–189. (In Russ.)] <https://doi.org/10.18699/VJ21.022>
45. Dudek MK, Michalak B, Woźniak M, Czerwińska ME, Filipek A, *et al.* Hydroxycinnamoyl derivatives and secoiridoid glycoside derivatives from *Syringa vulgaris* flowers and their effects on the pro-inflammatory responses of human neutrophils. Fitoterapia. 2017;121:194–205. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.07.008>
46. Блинова И. П., Дейнека В. И., Саласина Я. Ю., Олейниц Е. Ю., Дейнека Л. А. Антоцианы цветков сирени *Syringa vulgaris*. Химия растительного сырья. 2023. № 3. С. 127–132. [Blinova IP, Deyneka VI, Salasina YU, Oleinitz EY, Deineka LA. Anthocyanins of lilac flowers *Syringa vulgaris*. Chemistry of plant raw materials. 2023;3:127–132. (In Russ.)] <https://doi.org/10.14258/jepm.20230311638>
47. Borges A, Ferreira C, Saavedra MJ, Simões M. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. Microbial Drug Resistance. 2013;19(4):256–265. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0244>

48. Chen J, Zhong K, Qin S, Jing Y, Liu S, et al. Astragalin: A food-origin flavonoid with therapeutic effect for multiple diseases. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1265960. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1265960>
49. Stojković D, Petrović J, Soković M, Glamočlija J, Kukić-Marković J, et al. *In situ* antioxidant and antimicrobial activities of naturally occurring caffeic acid, *p*-coumaric acid and rutin, using food systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2013;93(13):3205–3208. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6156>
50. Arima H, Ashida H, Danno G. Rutin-enhanced antibacterial activities of flavonoids against *Bacillus cereus* and *Salmonella enteritidis*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2002;66(5):1009–1014. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.1009>
51. Ivanov M, Novović K, Malešević M, Dinić M, Stojković D, et al. Polyphenols as inhibitors of antibiotic resistant bacteria—mechanisms underlying rutin interference with bacterial virulence. *Pharmaceuticals*. 2022;15(3):385. <https://doi.org/10.3390/ph15030385>
52. Hosseinzadeh Z, Ramazani A, Razzaghi-Asl N. Plants of the genus *Heracleum* as a source of coumarin and furanocoumarin. *Journal of Chemical Reviews*. 2019;1(2):78–98. <https://doi.org/10.33945/SAMI/JCR.2019.1.7898>
53. Evstropov AN, Burova LG, Shirokikh IV, Lipceva AV, Schultz EE. Investigation of the antimicrobial activity of coumarin substances against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Bacteriology*. 2018;3(2):16–19.
54. Sumner LW, Amberg A, Barrett D, Beale MH, Beger R, et al. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis. *Metabolomics*. 2007;3:211–221. <https://doi.org/10.1007/s11306-007-0082-2>

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» предназначен для публикации статей, посвященных проблемам пищевой и смежных отраслей промышленности.

Статья должна отвечать профилю журнала, обладать научной новизной, публиковаться впервые.

Рукопись научной статьи, поступившая в редакцию журнала, рассматривается ответственным за выпуск на предмет соответствия профилю журнала и требованиям к оформлению, проверяется оригинальность представленного текста с помощью интернет-ресурса – <https://antiplagiat.ru>, регистрируется.

В журнале публикуются только рукописи, текст которых рекомендован рецензентами. Редакция организует «двухстороннее слепое» (анонимное) рецензирование представленных рукописей. Выбор рецензента осуществляется решением главного редактора или его заместителя. Для проведения рецензирования рукописей статей в качестве рецензентов могут привлекаться как члены редколлегии журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)», так и высококвалифицированные ученые и специалисты других организаций и предприятий, обладающие глубокими профессиональными знаниями и опытом работы по конкретному научному направлению, как правило, доктора наук, профессора. Все рецензенты являются признанными специалистами по тематике рецензируемых материалов и имеют в течение последних 3 лет публикации по тематике рецензируемой статьи.

Рецензенты уведомляются о том, что присланные им рукописи являются частной собственностью авторов и относятся к сведениям, не подлежащим разглашению. Рецензентам не разрешается делать копии статей для своих нужд. Рецензирование проводится конфиденциально. Нарушение конфиденциальности возможно только в случае заявления рецензента о недостоверности или фальсификации материалов, изложенных в статье.

Срок рассмотрения статьи не должен превышать трех месяцев со дня получения статьи на рецензирование.

Оригиналы рецензий хранятся в редакции издания в течение пяти лет со дня публикации статей. Если в рецензии имеется указание на необходимость исправления статьи, то она направляется автору на доработку. Если статья по рекомендации

рецензента подверглась значительной авторской переработке, то она направляется на повторное рецензирование тому же рецензенту, который сделал критические замечания. Редакция оставляет за собой право отклонения статей в случае неспособности или нежелания автора учесть пожелания редакции журнала.

При наличии отрицательных рецензий на рукопись от двух разных рецензентов или одной отрицательной рецензии на ее доработанный вариант статья отклоняется от публикации без рассмотрения другими членами редколлегии. Автору не принятой к публикации статьи ответственный за выпуск направляет мотивированный отказ. Фамилия рецензента может быть сообщена автору лишь с согласия рецензента.

Решение о возможности публикации после рецензирования принимается главным редактором, а при необходимости – редколлегией в целом.

Для публикации статей необходимо вносить плату (АРЧ). Оплата производится только после получения положительной рецензии и утверждения главным редактором статьи в номер. За подачу рукописи статьи в редакцию журнала, её проверку и рецензирование плата не взимается. Более подробно ознакомиться с условиями платы, скидками и привилегиями можно на <https://fppt.ru>

Редакция журнала направляет авторам представленных материалов копии рецензий или мотивированный отказ, а также обязуется направлять копии рецензий в Министерство науки и высшего образования Российской Федерации при поступлении в редакцию издания соответствующего запроса.

Редакция журнала «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» не хранит рукописи, не принятые к печати.

Рукописи печатаются, как правило, в порядке очередности их поступления в редакцию. В исключительных случаях, редакционная коллегия имеет право изменить очередность публикации статей.

Журнал «Техника и технология пищевых производств (Food Processing: Techniques and Technology)» является журналом открытого доступа (open access). Все материалы журнала распространяются на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0).

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЬИ

Объем статьи должен быть не менее 30–35 тыс. знаков (не включая списки литературы на русском и английском языках). Объем обзорной рукописи – более 35 тыс. знаков.

Оформление текста (форматирование): поля по 20 мм, одинарный интервал без переносов, лишние пробелы и абзацные интервалы, шрифт Times New Roman, 10 кегль. Следует избегать перегрузки статей большим количеством формул, дублирования одних и тех же результатов в таблицах и графиках.

Графики, диаграммы и т. п. (желательно цветные), созданные средствами Microsoft Office и Corel Draw, должны допускать возможность редактирования и направляются в редакцию отдельными файлами в форматах tiff, jpeg, cdr, excel.

Каждая таблица, график, диаграмма и т. п. должны иметь заголовки и порядковые номера, в тексте статьи должны присутствовать ссылки на каждую из них.

Структура статьи:

1. Тип статьи;
2. Название статьи;
3. Инициалы и фамилии всех авторов;
4. Официальное полное название учреждения;
5. E-mail автора, с которым следует вести переписку;
6. Аннотация (разбивается на разделы: «Введение», «Объекты и методы исследований», «Результаты и их обсуждение», «Выводы»);
7. Ключевые слова;
8. Финансирование;

9. Текст статьи (обязательные разделы: «Введение», «Объекты и методы исследований», «Результаты и их обсуждение», «Выводы»);
10. Критерий авторства;
11. Конфликт интересов;
12. Благодарности;
13. Список литературы;
14. References;
15. Сведения об авторах (на русском и английском языках).

Подать рукопись можно на сайте журнала <https://fppt.ru> или отправив на e-mail fppt98@gmail.com

В редакцию предоставляются:

1. Электронная версия статьи в программе MSWord. Файл статьи следует назвать по фамилии первого автора – ПетровГП.doc. Не допускается в одном файле помещать несколько документов;
2. Сканированная электронная версия статьи, подписанная всеми авторами, в программе PDF. Файл статьи следует назвать по фамилии первого автора – ПетровГП.pdf. Не допускается в одном файле помещать несколько документов;
3. Гарантийное письмо (скан-копия) на имя главного редактора журнала на бланке направляющей организации с указанием даты регистрации и исходящего номера, с заключением об актуальности работы и рекомендациями к опубликованию, с подписью руководителя учреждения;
4. Издательский лицензионный договор.

Более подробная информация на <https://fppt.ru>

СОДЕРЖАНИЕ

Арапова З. М., Нугманов А. Х.-Х., Бородулин Д. М., Алексанян И. Ю., Тихонов С. Л., Тихонова Н. В., Осмоловский П. Д. Адаптация математической модели сушки при комбинированном энергоподводе к икорному рыбному сырью на основе кинетики его обезвоживания 454	Али А.-Г. А., Кригер О. В. Влияние состава питательной среды на продуктивность и физико-химические свойства бактериальной целлюлозы 559
Чижова А. А., Бабич О. О., Каширских Е. В., Буденкова Е. А., Дышлюк Л. С. Микроводоросли <i>Scenedesmus</i> как источник пигментов и других биологически активных метаболитов: перспективы и проблемы применения 468	Колотова Д. С., Бордиян В. В., Боровинская Е. В., Воропаева С. О. Пищевые пленки на основе желатина из кожи холодноводных рыб и альгината натрия: разработка и характеристика 567
Варданян Л. Р., Арутюнян С. А., Торосян Г. О. Исследование антиоксидантной активности растительного сырья как натурального стабилизатора пищевых продуктов 485	Рябцева С. А., Шпак М. А., Сазанова С. Н. Особенности получения галактоолигосахаридов с использованием дрожжей <i>Kluyveromyces</i> 581
Хиен Б. Т. Т., Дием П. Т., Ан Д. В., Бат Н. К. Оптимизация технологии сушки и хранения морского винограда (<i>Caulerpa lentillifera</i>) 497	Пермякова Л. В., Рябоконева Л. А., Сергеева И. Ю., Лашицкий С. С., Ли Я., Хуан Ю. Продукты углекислотной экстракции как биоактиваторы дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 607
Богачёва Н. Н., Афонина Ю. Е., Серазетдинова Ю. Р., Колпакова Д. Е., Найк А., Фасхутдинова Е. Р., Любимова Н. А., Асякина Л. К. Потенциал совместного применения цеолита и ростостимулирующих бактерий для улучшения роста пшеницы 509	Кишилова С. А., Леонова В. А., Митрова В. А., Рожкова И. В. Современные биотехнологические решения в области использования молочнокислых бактерий для молочной промышленности: от селекции штаммов до пробиотических продуктов 624
Криницына А. А., Петров А. Н. Расширение области применения иммунофлуоресцентного метода для определения ветеринарных лекарственных препаратов в молочных продуктах 521	Неверов Е. Н., Тимошук И. В., Горелкина А. К., Иванова Л. А., Михайлова Е. С., Утробина Т. А., Майтаков А. Л. Деконтаминация ионов марганца из сточных вод и природных источников 634
Сорокина Н. П., Лепилкина О. В., Бруцкая А. Л., Топникова Е. В. Оценка протеолитической активности применяемых в сыроделии лактобацилл 540	Ганина В. И., Гришина М. А., Колесник М. В., Самольго А. К., Мозговая И. Н., Ионов И. И. Значение бактериофагов в управлении рисками безопасности ферментированных видов молочной продукции 648
Хозиев А. М., Евдокимов И. А., Цугкиев Б. Г., Гогаев О. К., Кабисов Р. Г., Гагиева Л. Ч., Гревцова С. А. Применение штаммов лактобактерий с заданными технологическими свойствами в биотехнологии кисломолочного масла 552	Мусина О. Н., Нагорных Е. М. Роль коллагена в формировании микроструктуры и реологических свойств плавленого сыра 659
	Люц В. А., Харлов С. Ю., Величкович Н. С., Проскурякова Л. А., Остапова Е. В., Иванова С. А., Козлова О. В. Антимикробные свойства экстрактов <i>Pulmonaria officinalis</i> , <i>Heracleum sibiricum</i> , <i>Syringa vulgaris</i> , произрастающих в Сибири 673

CONTENTS

Arabova Z. M., Nugmanov A. Kh.-Kh., Borodulin D. M., Aleksanyan I. Yu., Tikhonov S. L., Tikhonova N. V., Osmolovskiy P. D. Combined Energy Supply Drying of Fish Eggs and Lecithin Clot Based on Dehydration Kinetics: Mathematical Model Adaptation 455	Ali A.-G. A., Kriger O. V. Effect of Nutrient Medium Composition on Bacterial Cellulose: Yield and Physicochemical Profile 558
Chizhova A. A., Babich O. O., Kashirskikh E. V., Budenkova E. A., Dyshlyuk L. S. Microalgae <i>Scenedesmus</i> as a Source of Pigments and Other Biologically Active Metabolites: Application Prospects and Problems 469	Kolotova D. S., Bordiyan V. V., Borovinskaya E. V., Voropaeva S. O. Edible Gelatin Films from Cold Water Fish Skin and Sodium Alginate 568
Vardanyan L. R., Harutyunyan S. H., Torosyan G. H. Antioxidant Activity of Plant Raw Materials as Natural Food Stabilizers 486	Ryabtseva S. A., Shpak M. A., Sazanova S. N. Production of Galacto-Oligosaccharides Using <i>Kluyveromyces</i> Yeast 582
Hien B. T. T., Diem P. T., An D. V., Bat N. K. Optimizing the Dehydration and Quality Preservation of Sea Grapes (<i>Caulerpa lentillifera</i>) 496	Permyakova L. V., Ryabokoneva L. A., Sergeeva I. Yu., Lashitskiy S. S., Li Y., Huang Y. Carbon Dioxide Extraction Products as Biostimulators for Yeast <i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i> 608
Bogacheva N. N., Afonina Yu. E., Serazetdinova Yu. R., Kolpakova D. E., Naik A., Faskhutdinova E. R., Lyubimova N. A., Asyakina L. K. Combined Use of Zeolite and Growth-Stimulating Bacteria to Improve Wheat Growth 510	Kishilova S. A., Leonova V. A., Mitrova V. A., Rozhkova I. V. Advanced Biotechnological Solutions for Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry: From Strain Selection to Probiotic Products 625
Krinitsyna A. A., Petrov A. N. Immunofluorescence in Determining Veterinary Drugs in Dairy Products 522	Neverov E. N., Timoshchuk I. V., Gorelkin A. K., Ivanova L. A., Mikhaylova E. S., Utrobina T. A., Maytakov A. L. Removal of Manganese Ions from Natural and Wastewater 635
Sorokina N. P., Lepilkina O. V., Brutsкая A. L., Topnikova E. V. Evaluating the Proteolytic Activity of Lactobacilli in Cheese Production 541	Ganina V. I., Grishina M. A., Kolesnik M. V., Samolygo A. K., Mozgovaya I. N., Ionova I. I. Bacteriophages in Food Safety: Fermented Dairy Products 649
Khoziev A. M., Evdokimov I. A., Tsugkiev B. G., Gogaev O. K., Kabisov R. G., Gagieva L. Ch., Grevisova S. A. Lactobacilli Strains with Targeted Technological Properties in Sour-Cream Butter Biotechnology 553	Musina O. N., Nagornyh E. M. Effect of Collagen on Microstructural and Rheological Properties of Cheese Spreads 660
	Lutz V. A., Harlov S. Yu., Velichkovich N. S., Proskuryakova L. A., Ostapova E. V., Ivanova S. A., Kozlova O. V. Antimicrobial Properties of Siberian Wild Plant Extracts: <i>Pulmonaria officinalis</i> , <i>Heracleum sibiricum</i> , and <i>Syringa vulgaris</i> 674