

Методика оптико-электрохимического микробиологического тестирования в применении к сравнительному анализу свойств эфирных масел



В. С. Сибирцев^{*ID}, У. Ю. Нечипоренко^{ID}, В. Л. Кабанов^{ID}, М. Ю. Кукин^{ID}

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок^{ROR},
Санкт-Петербург, Россия
Дата поступления в редакцию: 07.09.2020
Дата принятия в печать: 25.12.2020

*e-mail: vs1969r@mail.ru



© В. С. Сибирцев, У. Ю. Нечипоренко, В. Л. Кабанов, М. Ю. Кукин, 2020

Аннотация.

Введение. В последнее время для развития системы мониторинга качества и безопасности пищевой и иной продукции актуальной становится проблема разработки доступных для широкого применения методов оценки микробиологической контаминированности и биологической активности образцов такой продукции. Это определило цель исследования.

Объекты и методы исследования. 10 эфирных масел, полученных из разных видов растительного сырья. Они могут использоваться в качестве функциональных добавок к различной пищевой и иной продукции.

Результаты и их обсуждение. Разработана методика биотестирования, предусматривающая периодическую регистрацию изменений интенсивности упругого светорассеяния, pH и электропроводности жидкой питательной среды, инкубируемой в присутствии и в отсутствие жизнеспособных тестовых микроорганизмов и тестируемых образцов. Представлены результаты сравнительного анализа с помощью данной методики антибиотической активности разных концентраций эфирных масел. Проведенные исследования подтвердили, что при снижении концентрации эфирных масел в тестовой среде монотонно уменьшалась их антибиотическая активность. Краткосрочная биологическая активность эфирных масел была больше их долгосрочной активности. А среднесрочная биологическая активность эфирных масел была промежуточной по величине и лишь иногда превышала не только долгосрочную, но и краткосрочную биологическую активность. Среди исследованных эфирных масел наиболее активные долгосрочные антибиотические свойства проявили экстракты из листьев туи западной (*Thuja occidentalis*), эвкалипта шаровидного (*Eucalyptus globulus*) и кипариса вечнозеленого (*Cupressus sempervirens*).

Выводы. Разработанная методика позволяет существенно экспрессно, объективно и информативно, а также менее трудоемко и материалоемко, чем при использовании стандартных визуальных микробиологических методов, оценивать влияние на динамику жизненной активности микроорганизмов различных тестируемых образцов.

Ключевые слова. Растительные экстракты, эфирные масла, биотестирование, антибиотические свойства, контаминированность

Для цитирования: Методика оптико-электрохимического микробиологического тестирования в применении к сравнительному анализу свойств эфирных масел / В. С. Сибирцев, У. Ю. Нечипоренко, В. Л. Кабанов [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2020. – Т. 50, № 4. – С. 650–659. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-650-659>.

Original article

Available online at <http://fppt.ru/eng>

Electrochemical and Optical Microbiological Testing: a Comparative Study on Properties of Essential Oils

Vladimir S. Sibirtsev^{ID}, Uliana Yu. Nechiporenko^{ID}, Vladimir L. Kabanov^{ID},
Mikhail Yu. Kukin^{ID}

Received: September 07, 2020
Accepted: December 25, 2020

All-Russia Research Institute for Food Additives^{ROR},
St. Petersburg, Russia

*e-mail: vs1969r@mail.ru



© V.S. Sibirtsev, U.Yu. Nechiporenko, V.L. Kabanov, M.Yu. Kukin, 2020

Abstract.

Introduction. The national economy is currently developing a system for monitoring the quality and safety of goods. Food products, ingredients, and additives possess various pro- and antibiotic properties. Therefore, available express methods of quantitative

assessment of microbiological contamination are a relevant aspect of domestic food industry.

Study objects and methods. The study featured ten essential oils of plant origin that can be used as functional additives to various food products.

Results and its discussion. The research introduced a new biotesting technique for repetitive recording of changes in the intensity of elastic light dispersion. The technique made it possible to measure pH and electrical conductivity of a liquid nutrient medium incubated in the presence and absence of viable test microorganisms and test samples. The paper describes the results of this technique applied to a comparative analysis of antibiotic activity of various essential oils in different concentrations. As the concentrations of the test extracts decreased, their antibiotic activity monotonically also went down, while the probiotic activity increased. The short-term biological activity of test samples appeared to be significantly higher than their long-term activity. The medium-term biological activity of the test samples was mostly intermediate in value. Only rarely did it exceed both the long- and short-term biological activity of the same TE. The essential oils obtained from the leaves of *Thuja occidentalis*, *Eucalyptus globulus*, and *Cupressus sempervirens* exhibited the most active and long antibiotic properties.

Conclusion. The biological activity of food products, including various plant extracts, depends not only on the raw material and the extraction method, but also on the concentration of the extract in the product. As a rule, the exact nature of these dependencies can only be established empirically and requires a set of various tests. The present article introduces a new highly objective and informative express methodology that simplifies this process. The technique is less labor-, time-, and material-consuming than standard visual microbiological methods. It can be used to assess the effect of test samples on the vital activity of microorganisms in various foods, ingredients, and additives.

Keywords. Plant extracts, essential oils, biotesting, antibiotic properties, contamination

For citation: Sibirtsev VS, Nechiporenko UYu, Kabanov VL, Kukin MYu. Electrochemical and Optical Microbiological Testing: a Comparative Study on Properties of Essential Oils. Food Processing: Techniques and Technology. 2020;50(4):650–659. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-650-659>.

Введение

В последнее время в пищевой, а также во многих других отраслях народного хозяйства актуальной становится проблема разработки объективных и в то же время экспрессных и доступных для широкого применения методов количественной оценки про- и антибиотических свойств образцов как новой, так и уже допущенной к применению продукции. В последнем случае вышеупомянутые методы являются одной из важных составляющих системы мониторинга качества и безопасности продукции. При их реализации применяются как многоклеточные, так и одноклеточные тестовые живые организмы. Последние используются не только как дешевая, доступная и статистически достоверная модель живых организмов, но и как модель полезной естественной микробиоты человека, а также природной микробиоты, способной вызывать различные инфекционные заболевания, токсикозы, аллергические реакции, способствовать порче пищевой и иной продукции и т. д.

Однако принятые в настоящее время в качестве стандартных при микробиологическом тестировании процедуры визуальной оценки общей выживаемости микроорганизмов либо величины зоны задержки роста их колоний требуют для своего проведения значительных затрат времени, материалов и труда квалифицированного персонала. Результатом является неполная, субъективная и «статичная» информация о нарушениях жизнедеятельности тестовых организмов [1–5]. Таким образом, перспективным представляется использование в микробиологическом тестировании

инструментальных технологий, среди которых простыми в исполнении, достоверными и универсальными являются различные оптические и электрохимические методы.

Кроме того, в последнее время в пищевой продукции, производимой и потребляемой человеческим обществом, ощущается недостаток биологически активных веществ (БАВ) природного происхождения. БАВ способствуют нормальному развитию и функционированию как самого человеческого организма (часто дополнительно ослабленного стрессами, наличием различных физико-химических факторов загрязнения окружающей среды, недостатком природного освещения и физической активности, контактами с многочисленной посторонней микробиотой, которая агрессивна по отношению к человеческому организму и т. п.), так и симбиотически связанной с ним полезной микробиоты, либо угнетению жизнедеятельности вредной для человека микробиоты.

Производство концентрированных синтетических аналогов БАВ при современном уровне развития технологий часто является затратным с экономической точки зрения, а также малоэффективным из-за сложности достижения нужной степени чистоты, стереоспецифичности и других параметров данной продукции, способных обеспечить высокую степень биологической активности таких соединений. Кроме того, растительные экстракты, по сравнению с синтетическими средствами, обладают меньшими по широте спектра и интенсивности действия на

человеческий и другие живые организмы побочными эффектами.

В результате экстракты из различного растительного сырья в настоящее время являются одним из наиболее приемлемых и распространенных источников БАВ, используемых в качестве функциональных добавок к пищевой, фармацевтической и иной продукции. Из различных видов растительных экстрактов наиболее широкое распространение в настоящее время получили эфирные масла. Их получают промышленно или лабораторно из различного растительного сырья физико-химическими способами (холодный или горячий отжим, дистилляция, экстрагирование при нормальных либо повышенных давлении и/или температуре с помощью различных органических растворителей с последующим удалением этих растворителей при повышенной температуре или под вакуумом и т. п.) [6]. При этом холодный отжим обеспечивает наименьший выход конечного продукта из исходного сырья. Но данный метод является наиболее щадящим, позволяя лучше всего сохранять первичную и пространственную структуру БАВ, содержащихся в исходном сырье. Это обеспечивает их наивысшую биологическую активность. Дистилляция с водяным паром является наиболее распространенным на сегодняшний день методом получения эфирных масел. Однако в эфирных маслах, первым этапом получения которых является экстракция растительных БАВ органическими растворителями (иногда весьма токсичными), даже на конечном этапе их получения остается большое количество органических экстрагентов. Поэтому эфирные масла являются плохо пригодными для внутреннего употребления.

Эфирные масла, получаемые описанными выше способами, позволяют достичь большей и стабильной биологической активности конечного продукта по сравнению с водными, спиртовыми и иными растительными экстрактами, получаемыми без удаления экстрагентов. Эфирные масла, получаемые «холодными» методами, богаче по составу и биологической активности экстрагируемых в них растительных БАВ, но содержат меньшие концентрации последних. Поэтому в настоящее время эфирные масла широко (среди других видов растительных экстрактов) применяются в пищевой и других отраслях промышленности в качестве добавок, обладающих избирательным либо малоспецифическим про- или антимикробным действием (используемым, в том числе, при лечении различных респираторных заболеваний, а также заболеваний зубов, полости рта и т. п.), добавок, обладающих различными видами нормализующего действия (используемого, в том числе, при лечении различных нервных, сердечно-сосудистых, диабетических, пищеварительных

и иных заболеваний), а также консервирующих, антиоксидантных, ароматизирующих, вкусовых и иных видов добавок [1–3, 6–16]. Кроме того, эфирные масла используются в качестве антисептиков, экологически безопасных инсектицидов и пестицидов, добавок к различным зуботерапевтическим, ранозаживляющим и другим медицинским и упаковочным материалам (съедобным, биоразлагаемым, обладающим выраженным антимикробным действием и т. п.) [7, 17–21].

Целью исследования стала разработка экспрессной и объективной инструментальной методики оценки микробиологической контаминированности, про- и антибиотических свойств различной пищевой и иной продукции, а также отдельных ингредиентов и добавок к ней с последующим анализом влияния на динамику жизнедеятельности микробиоты человека различных растительных экстрактов.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования в настоящей работе были взяты эфирные масла, полученные из следующих видов растительного сырья: хвоя ели обыкновенной (*Picea abies*) (№ 1), хвоя сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) (№ 2), хвоя пихты сибирской (*Abies sibirica*) (№ 3), хвоя и семена кедр сибирского (сосна сибирская кедровая *Pinus sibirica*) (№ 4 и № 5 соответственно), хвоя кедр атлантического (*Cedrus atlantica*) (№ 6), ягоды можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis*) (№ 7), листья кипариса вечнозеленого (*Cupressus sempervirens*) (№ 8), листья туи западной (*Thuja occidentalis*) (№ 9) и листья эвкалипта шаровидного (*Eucalyptus globulus*) (№ 10).

Указанные эфирные масла были закуплены у крупных российских производителей: Mirrolla (<https://mirrolla.ru>), Botanika (<https://botavikos.ru>) и Oleos (<https://oleos-info.ru>). Причем при наличии у этих компаний эфирных масел, получаемых из «одинаковых» видов растительного сырья, предпочтение отдавалось компаниям, стоящим левее в указанном выше списке.

Результаты и их обсуждение

Для анализа влияния различных концентраций эфирных масел на динамику жизнедеятельности микроорганизмов, учитывая результаты авторских наработок по различным способам инструментального биотестирования, была разработана следующая методика [22–27].

Для каждой партии эфирных масел проводилось по четыре серии измерений. Перед началом каждой готовилась питательная среда, представлявшая собой стерильный водный раствор с pH $7,2 \pm 0,2$, содержащий 5 г/л глюкозы, 20 г/л белкового гидролизата и 2 г/л NaCl. Затем питательная среда засеивалась *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

Они были выбраны в качестве типичных представителей микробиоты, широко распространенной как во вне, так и внутри организма человека и других живых организмов. *L. acidophilus* активно участвуют в деструкции различных биополимеров, а также широко используются человеком во многих биотехнологических процессах, включая биоконсервирование, силосование, получение различной кисломолочной продукции и т. п. Далее питательная среда с тестовыми микроорганизмами инкубировалась при $37 \pm 0,1$ °C, пока содержание жизнеспособных микроорганизмов в ней не достигало примерно 5×10^6 кл/мл (что удостоверялось нефелометрическим способом по бактериальному стандарту мутности).

Полученная тестовая среда разливалась по измерительным емкостям (ИЕ). В каждую (за исключением 3 контрольных-1 ИЕ, содержащих тестовую среду с жизнеспособными микроорганизмами без эфирных масел, но с добавлением 3-х контрольных-2 ИЕ, содержащих стерильную питательную среду с тем или иным эфирным маслом) предварительно добавлялось (по 3 ИЕ в параллель) количество тестируемого объекта (эфирные масла, получаемые из растительного сырья), необходимое для достижения заданной концентрации эфирных масел в тестовой среде. Затем как тестовые, так и все контрольные ИЕ, инкубировались при $37 \pm 0,1$ °C в течение 6 часов. При этом у тестовых сред, содержащихся в каждой ИЕ, последовательно и с интервалом в 2 часа регистрировались интенсивность упругого светорассеяния в видимой области спектра (*Iod*), pH и удельная, линейная, низкочастотная электропроводность (*X*, мСм/см). *Iod* регистрировалась с помощью нефелометра «WGZ-2»; pH регистрировалось с помощью иономера «Эксперт-001» (Россия) с комбинированным электродом «ЭСК-10601/7»; а *X* регистрировалась с помощью кондуктометра «Эксперт-002» (Россия) с датчиком «УЭП-П-С», работающим на частоте 1,6 кГц. После чего общая степень активирования/ингибирования (+/–) жизнедеятельности тестовых микроорганизмов заданными концентрациями тестируемых эфирных масел рассчитывалась по формуле:

$$\varepsilon_{V,k} = (\varepsilon_{Iod,k} + 0,7\varepsilon_{pH,k} + 0,7\varepsilon_{X,k}) / 2,4 \quad (1)$$

где $\varepsilon_{Iod,k}$, $\varepsilon_{pH,k}$ и $\varepsilon_{X,k}$ определялись отдельно по результатам измерений *Iod*, pH и *X* у тестовых сред, содержащихся в ИЕ, в ходе инкубации этих ИЕ по формуле:

$$\varepsilon_{i,k} = 100 \times (\Delta Y_{t,i,k} - \Delta Y_{c,i,k}) / \Delta Y_{c,i,k} \quad (2)$$

где $\Delta Y_{t,i,k}$ и $\Delta Y_{c,i,k}$ – усредненные по выборке из *N* образцов с одинаковыми концентрациями эфирных

масел, приготовленных одинаковым способом из одного вида растительного сырья (в нашем случае $N = 3 \times 4 = 12$), изменения значений *i*-параметра тестовой среды (где *i* = 1, 2 и 3 соответствуют таким параметрам тестовой среды, как *Iod*, pH и *X*), произошедшие за *k* часов от начала инкубирования этой среды в присутствии заданной концентрации эфирного масла (ΔY_t , наблюдаемое в тестовых ИЕ) либо в отсутствие эфирного масла (ΔY_c , наблюдаемое в контрольных-1 ИЕ, тестовые среды в которых содержали жизнеспособные микроорганизмы, но не содержали эфирных масел).

Ошибка определения каждой из усредненных величин $\varepsilon_{Iod,k}$, $\varepsilon_{pH,k}$ и $\varepsilon_{X,k}$ рассчитывалась стандартным образом, как $\Delta \varepsilon_Y = t_{\alpha, N-1} \sigma_Y$, с использованием критерия Стьюдента ($t_{\alpha, N-1}$ для уровня достоверности $\alpha = 0,95$ и числа степеней свободы $N-1$), математического ожидания ($\varepsilon_{Y,S} = \sum \varepsilon_{Y,i} / N$) и его дисперсии ($\sigma_Y = [\sum (\varepsilon_{Y,i} - \varepsilon_{Y,S})^2 / (N-1)]^{1/2}$) [28, 29]. После чего полученные значения $\Delta \varepsilon_{pH,k}$, $\Delta \varepsilon_{E,k}$ и $\Delta \varepsilon_{X,k}$ суммировались для величины $\varepsilon_{V,k}$ по стандартной формуле $\Delta z(x_i) = \sum (\Delta x_i \delta z / \delta x_i)$, исходя из которой $\Delta \varepsilon_{V,k} = (\Delta \varepsilon_{Iod,k} + 0,7\Delta \varepsilon_{pH,k} + 0,7\Delta \varepsilon_{X,k}) / 2,4$ [28, 29].

Параметры *Iod*, pH и *X* были выбраны для оценки общей степени активирования или ингибирования жизнедеятельности тестовых микроорганизмов заданными концентрациями тестируемых экстрактов, т. к. они надежно измеряются инструментально. При этом они чувствительно связаны с изменением количества и размера микроорганизмов, присутствующих в единице объема тестовой среды (в случае *Iod*, чем больше клеток микроорганизмов присутствует в тестовой среде, тем интенсивней они рассеивают видимый свет). Также с тем на сколько % по отношению к контролю ускорялось либо замедлялось преобразование жизнеспособными микроорганизмами катаболитов, присутствующими в тестовой среде, в анаболиты после *k* часов их инкубации при заданных температуре и концентрации эфирного масла, по сравнению с теми же процессами, осуществляемыми теми же микроорганизмами в той же среде в отсутствие эфирных масел. В случае pH и *X* преобразование микроорганизмами катаболитов, присутствующих в тестовой среде, в анаболиты существенно изменяет кислотность и электропроводность последних.

Правомерность объединения в ε_V величин ε_{Iod} , ε_{pH} и ε_X можно объяснить тем, что каждая из этих величин независимо нормировалась на контрольные значения определяющего ее показателя. Таким образом, единообразно (в % по отношению к контролю) отражала изменение метаболизма тестовых микроорганизмов в присутствии тестируемого эфирного масла, в то же время по-разному характеризуя это изменение (поскольку изменение *Iod*, pH и *X* в тестовой среде обуславливали разные метаболические процессы, осуществляемые присутствующими там жизнеспособными микро-

организмами). В результате чего суммарная величина ϵ_v информативно и адекватно характеризовала изменения метаболической активности тестовых микроорганизмов, чем каждая из величин ϵ_{lod} , ϵ_{pH} и ϵ_x по отдельности.

Последнее подтверждается тем, что для ϵ_v имела место 90 % достоверная корреляция с изменением количества колоний образующих единиц (КОЕ) тестовых микроорганизмов, определяемым с применением стандартной методики [1–5]. Подсчет колоний *L. acidophilus* производили через 24 ч инкубации при 37 °C на плотной питательной среде (жидкая питательная среда с добавлением 20 г/л микробиологического агар-агара). Сравнение производили после инкубации тестовых микроорганизмов в присутствии и в отсутствие 1 об.% какого-либо из тестируемых эфирных масел с контролем-1 (те же микроорганизмы в той же тестовой среде, но без эфирных масел). Высеивание проводилось для нескольких последовательных разведений тестовой среды (каждое в несколько параллельных чашек Петри). После отбирались те разведения, при использовании которых на одной чашке Петри вырастало не менее 10 и не более 50 колоний тестовых микроорганизмов. Данные по ним статистически обрабатывались.

Микробиологическая контаминированность (C_M) тестируемых образцов могла быть рассчитана

по формулам, аналогичным 1 и 2. Однако ΔY_t определялась не для тестовых, а для контрольных-1 ИЕ, а ΔY_c определялась для контрольных-2 ИЕ, содержащих какое-либо из тестируемых эфирных масел в стерильной питательной среде. Полученное значение C_M^* домножалось на калибровочный коэффициент, определяемый предварительно на основании сравнения результатов, полученных с помощью описанной выше методики, с результатами, полученными для тех же концентраций эфирных масел с помощью вышеупомянутой стандартной методики микробиологического тестирования. При этом C_M показывало сколько жизнеспособных микроорганизмов исходно присутствовало в тестируемом образце. Если вместо общенакопительной питательной среды, использованной в этой работе, тестируемый образец инкубировать в селективных питательных средах, то указанным выше способом можно определять не только общую контаминированность тестируемого образца, но и применительно к отдельным видам и штаммам микроорганизмов.

Данные, полученные описанным выше способом, представлены в таблице 1.

Долгосрочную (продолгованную) антибиотическую активность тестируемых экстрактов оценивали по величине $\epsilon_{v,6}$, определяемой через 6 ч

Таблица 1. $\epsilon_{v,k}$ (%), определявшиеся через 2, 4 и 6 часов инкубирования *Lactobacillus acidophilus* в присутствии разных количеств эфирных масел (ЭфМ), изготовленных из разного растительного сырья

Table 1. $\epsilon_{v,k}$ (%) determined after 2, 4, and 6 h of incubation of *Lactobacillus acidophilus* in the presence of different amounts of essential oils of various plant origin

№ сырья	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10
конц. ЭфМ	1 об.%									
$\epsilon_{v,2}$ %	–72	–65	–78	–67	–70	–79	–68	–91	–85	–89
$\epsilon_{v,4}$ %	–67	–59	–69	–61	–67	–70	–59	–80	–79	–80
$\epsilon_{v,6}$ %	–62	–55	–65	–58	–64	–60	–53	–69	–73	–71
конц. ЭфМ	0,5 об.%									
$\epsilon_{v,2}$ %	–55	–48	–51	–50	–54	–41	–28	–53	–62	–70
$\epsilon_{v,4}$ %	–42	–47	–45	–42	–49	–37	–30	–49	–56	–56
$\epsilon_{v,6}$ %	–35	–33	–42	–34	–44	–34	–27	–45	–50	–48
конц. ЭфМ	0,3 об.%									
$\epsilon_{v,2}$ %	–34	–27	–36	–29	–34	–34	–21	–37	–39	–44
$\epsilon_{v,4}$ %	–30	–24	–32	–26	–31	–26	–23	–35	–35	–35
$\epsilon_{v,6}$ %	–25	–22	–27	–24	–28	–22	–19	–30	–31	–31
конц. ЭфМ	0,1 об.%									
$\epsilon_{v,2}$ %	–23	–17	–23	–21	–23	–18	–14	–18	–25	–23
$\epsilon_{v,4}$ %	–21	–18	–19	–18	–20	–16	–15	–21	–21	–18
$\epsilon_{v,6}$ %	–16	–15	–17	–16	–18	–15	–13	–18	–19	–18

Методику определения общих степеней активирования/ингибирования (+/–) жизнедеятельности тестовых микроорганизмов разными концентрациями различных ЭфМ ($\epsilon_{v,k}$, где $k = 2, 4$ и 6 ч инкубирования), а также соответствие № 1–10 видов сырья, использованного для приготовления ЭфМ, смотрите в разделе «Объекты и методы исследования». Относительная ошибка определения ϵ_v для всех указанных в таблице значений находилась в диапазоне от 10 до 20 %.

See Objects and Methods for 1) the method for determining the general degrees of activation/inhibition (+/–) of the vital activity of test microorganisms depending on the concentration of various essential oils ($\epsilon_{v,k}$, where $k = 2, 4$, and 6 h of incubation), 2) compliance with the ten types of raw materials used to prepare the essential oils. The relative error in determining ϵ_v for all values in the table was between 10 and 20%.

инкубации тестовой среды с жизнеспособными микроорганизмами в присутствии заданной концентрации того или иного эфирного масла. При этом в порядке убывания $\varepsilon_{V,6}$ (характеризующего по нашим оценкам увеличение антибиотической активности тестируемого объекта) эфирные масла, получаемые из различных видов растительного сырья, можно было упорядочить следующим образом, где в скобках после № сырья указаны соответствующие ему $\varepsilon_{V,6}$ (табл. 1):

«№ 9 (–73) > № 10 (–71) > № 8 (–69) >> № 3 (–65) > № 5 (–64) >> № 1 (–62) > № 6 (–60) > № 4 (–58) >> № 2 (–55) > № 7 (–53)» (для 1 об.% эфирных масел в тестовой среде);

«№ 9 (–50) > № 10 (–48) >> № 8 (–45) > № 5 (–44) > № 3 (–42) >>> № 1 (–35) > № 4 (–34) $\approx$ № 6 (–34) > № 2 (–33) >>> № 7 (–27)» (для 0,5 об.% эфирных масел в тестовой среде);

«№ 9 (–31) $\approx$ № 10 (–31) > № 8 (–30) > № 5 (–28) > № 3 (–27) > № 1 (–25) > № 4 (–24) > № 2 (–22) $\approx$ № 6 (–22) >> № 7 (–19)» (для 0,3 об.% эфирных масел в тестовой среде);

«№ 9 (–19) > № 5 (–18) $\approx$ № 8 (–18) $\approx$ № 10 (–18) > № 3 (–17) > № 1 (–16) $\approx$ № 4 (–16) > № 2 (–15) $\approx$ № 6 (–15) > № 7 (–13)» (для 0,1 об.% эфирных масел в тестовой среде).

Видно, что с изменением концентраций эфирных масел в тестовой среде может меняться и характер их биологической активности относительно других эфирных масел. Из листьев частей разных растений можно экстрагировать различные БАВ. Отчетливо это видно на примере сравнения антибиотической активности эфирных масел, полученных из хвои и семян кедра сибирского (№ 4 и № 5 соответственно), а также листьев туи западной (№ 9), для которых при их концентрации в тестовой среде равной 1 об.% $\varepsilon_{V,6}$ составили –58, –64 и –73 % соответственно.

Среди исследованных эфирных масел активные пролонгированные (долгосрочные) антимикробные свойства в отношении тестовых микроорганизмов (характеризуемые в таблице 1 величиной $\varepsilon_{V,6}$, определяемой через 6 ч инкубации тестовых микроорганизмов в присутствии тестируемых экстрактов) проявили эфирные масла, полученные из листьев туи западной (№ 9), эвкалипта шаровидного (№ 10) и кипариса вечнозеленого (№ 8).

Начальная (краткосрочная) антибиотическая активность эфирных масел (характеризуемая в таблице 1 величиной $\varepsilon_{V,2}$, определяемой через 2 ч инкубации тестовых микроорганизмов в присутствии эфирных масел) в большинстве случаев была существенно больше их долгосрочной активности. Это объяснялось как адаптацией этих микроорганизмов к присутствию тестируемого эфирного масла, так и уменьшением с течением времени активности и общего количества БАВ, содержащихся в тестируемом эфирном масле,

приходящегося на один тестовый микроорганизм (поскольку общее количество тестовых микроорганизмов во время инкубации тестовой среды увеличивалось, тогда как активность и общее количество БАВ, содержащихся в тестируемых эфирных маслах, в ходе инкубации содержащих их тестовых сред не только не увеличивались, но даже уменьшались из-за биохимической и физико-химической денатурации и деструкции упомянутых БАВ).

Среднесрочная (по времени взаимодействия эфирных масел с тестовыми микроорганизмами) антибиотическая активность эфирных масел (характеризуемая в таблице 1 величиной $\varepsilon_{V,4}$, определяемой через 4 ч инкубации тестовой среды с эфирным маслом) в большинстве случаев была промежуточной по величине между $\varepsilon_{V,2}$ и $\varepsilon_{V,6}$. Лишь иногда (например, ЭфМ № 7 в концентрациях ниже 0,5 об.%, а также ЭфМ № 2 и № 8 в концентрациях 0,1 об.%) превышала не только долго-, но и краткосрочную антибиотическую активность того же эфирного масла.

При этом с уменьшением концентраций эфирных масел в тестовой среде их антибиотическая активность в отношении тестовых микроорганизмов монотонно уменьшалась. Например, при концентрациях 1, 0,3 и 0,1 об.% долгосрочная антибиотическая активность эфирных масел из листьев туи западной (№ 9) была равна –73, –31 и –19 %; а $\varepsilon_{V,6}$ эфирных масел из ягод можжевельника обыкновенного (№ 7) была равна –53, –19 и –13 % соответственно.

Выводы

С помощью представленной в настоящей работе методики можно экспрессно (в течение нескольких часов, а не суток), объективно (за счет уменьшения роли субъективного человеческого фактора при замене в процессе измерений визуальных методов на инструментальные) и информативно, чем при использовании стандартных методов, оценивать исходную микробиологическую контаминированность (не только общую, но и применительно к отдельным видам и штаммам микроорганизмов), влияние на динамику жизненной активности тестовых микроорганизмов различных образцов пищевой и иной продукции, а также отдельных ингредиентов и добавок к ней (включая различные растительные экстракты). При этом большая информативность предлагаемой методики достигается за счет того, что, во-первых, инструментальные способы измерения чувствительней визуальных (применяемых в стандартных методах). Во-вторых, предлагаемая методика дает возможность оценивать динамику изменения жизненной активности микроорганизмов на множестве произвольно выбираемых времен-

ных отрезков (в отличие от стандартных процедур, где измерения производятся лишь один раз, в конце периода инкубации тестируемых образцов). В-третьих, предлагаемая методика предполагает оценку изменения жизненной активности микроорганизмов сразу по нескольким независимым показателям (таким как интенсивность светорассеяния, pH и электропроводность тестовой среды), а не только по одному (мутности тестовой среды, числу колоний микроорганизмов или величине зоны задержки их роста), как в случае применения стандартных методик. Кроме того, представленная методика менее материалоемка и трудоемка, по сравнению с аналогичными стандартными методами, а также дает гораздо больше возможностей для автоматизации всего процесса анализа.

Все это делает представленную методику доступной для массового применения, чем ранее используемые стандартные методы микробиологического тестирования и оценки микробиологической контаминированности образцов различной продукции. Последнее же является весьма актуальным в свете того, что одним из важных условий обеспечения должного уровня безопасности и качества жизни людей является не только своевременное и качественное тестирование про- и антибиотических свойств новой пищевой и иной продукции, а также отдельных ингредиентов и добавок к ней, но и постоянный широкий мониторинг про- и антибиотических свойств уже допущенной к массовому употреблению продукции с целью выявления недоброкачественных либо успевших до окончательной реализации испортиться или претерпеть химическое или биологическое заражение ее образцов.

В отношении исследованных растительных экстрактов следует отметить следующее. Из разных частей растений различными способами можно экстрагировать БАВ. С изменением концентраций эфирных масел может меняться характер их биологической активности. Среди исследованных эфирных масел наиболее активные долгосрочные

антибиотические свойства проявили экстракты из листьев туи западной, эвкалипта шаровидного и кипариса вечнозеленого.

Краткосрочная биологическая активность эфирных масел в большинстве случаев была больше их долгосрочной активности. А среднесрочная биологическая активность эфирных масел была промежуточной по величине и лишь иногда превышала не только долгосрочную, но и их краткосрочную биологическую активность. При этом с уменьшением концентраций эфирных масел в тестовой среде их антибиотическая активность монотонно уменьшалась.

Очевидно, что характер про- и антибиотической активности пищевой и иной продукции, в том числе включающей различные эфирные масла, в значительной степени определяется выбором не только сырья и способа экстрагирования из него БАВ, но и концентрацией действующих веществ в продукции. Причем точный характер этих зависимостей может быть установлен лишь эмпирически, т. е. с помощью значительного числа тестовых испытаний (которые удобно проводить представленной в этой работе методикой).

Критерии авторства

В. С. Сибирцев руководил проектом. У. Ю. Нечипоренко, В. Л. Кабанов и М. Ю. Кукин участвовали в проведении экспериментов и обсуждении их результатов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

V.S. Sibirtsev supervised the project, while U.Yu. Nechiporenko, V.L. Kabanov, and M.Yu. Kukin performed the experimental work and assessed the obtained results.

Conflict of interest

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

Список литературы

1. *In vitro* effects of food extracts on selected probiotic and pathogenic bacteria / J. Sutherland, M. Miles, D. Hedderley [et al.] // International Journal of Food Sciences and Nutrition. – 2009. – Vol. 60, № 8. – P. 717–727. <https://doi.org/10.3109/09637480802165650>.
2. Das, S. Synergistic or additive antimicrobial activities of Indian spice and herbal extracts against pathogenic, probiotic and food-spoiler micro-organisms / S. Das, C. Anjeza, S. Mandal // International Food Research Journal. – 2012. – Vol. 19, № 3. – P. 1185–1191.
3. Al-Zubairi, A. S. The antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of essential oil from different aromatic plants / A. S. Al-Zubairi, M. A. Al-Mamary, E. Al-Ghasani // Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Sciences. – 2017. – Vol. 6, № 9. – P. 224–233.
4. Zhuravlev, O. E. Synthesis and antimicrobial activity of n-decylpyridinium salts with inorganic anions / O. E. Zhuravlev, L. I. Voronchikhina // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2018. – Vol. 52, № 4. – P. 312–315. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1813-6>.

5. Synthesis and antimicrobial activity of 5-(arylmethylidene)-2,4,6-pyrimidine-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triones / S. A. Luzhnova, A. G. Tyrkov, N. M. Gabitova [et al.] // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2018. – Vol. 52, № 6. – P. 506–509. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1849-7>.
6. Rodino, S. Herbal extracts – new trends in functional and medicinal beverages / S. Rodino, M. Butu // *Functional and medicinal beverages. Volume 11: The science of beverages* / A. M. Grumezescu, A. M. Holban. – Academic Press, 2019. – P. 73–108. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816397-9.00003-0>.
7. Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review / S. Burt // *International Journal of Food Microbiology*. – 2004. – Vol. 94, № 3. – P. 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
8. Biological effects of essential oils – A review / F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. – 2008. – Vol. 46, № 2. – P. 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
9. Herbal antidiabetics: A review / A. K. Tripathi, P. K. Bhoyar, J. R. Baheti [et al.] // *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. – 2011. – Vol. 2, № 1. – P. 30–37.
10. Benefits of herbal extracts in cosmetics: a review / A. Fatima, S. Alok, P. Agarwal [et al.] // *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. – 2013. – Vol. 4, № 10. – P. 3746–3760. [https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.4\(10\).3746-60](https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.4(10).3746-60).
11. Herbal antioxidant in clinical practice: a review / S. Alok, S. K. Jain, A. Verma [et al.] // *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. – 2014. – Vol. 4, № 1. – P. 78–84. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60213-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60213-6).
12. Donsi, F. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food / F. Donsi, G. Ferrari // *Journal of Biotechnology*. – 2016. – Vol. 233. – P. 106–120. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.005>.
13. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review / M. Radice, S. Manfredini, P. Ziosi [et al.] // *Fitoterapia*. – 2016. – Vol. 114. – P. 144–162. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.09.003>.
14. Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections / A. Merghni, H. Marzouki, H. Hentati [et al.] // *Current Research in Translational Medicine*. – 2016. – Vol. 64, № 1. – P. 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2015.10.003>.
15. Fani, M. In vitro antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* essential oil against major oral pathogens / M. Fani, J. Kohanteb // *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*. – 2017. – Vol. 22, № 4. – P. 660–666. <https://doi.org/10.1177/2156587217700772>.
16. Influence of *Pleurotus ostreatus* β -glucans on the growth and activity of certain lactic acid bacteria / M. S. Kokina, M. Frioui, M. M. Shamtsyan [et al.] // *Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*. – 2018. – Vol. 19, № 4. – P. 465–471.
17. Atarés, L. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging / L. Atarés, A. Chiralt // *Trends in Food Science and Technology*. – 2016. – Vol. 48. – P. 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.001>.
18. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends / R. Ribeiro-Santos, M. Andrade, N. R. de Melo [et al.] // *Trends in Food Science and Technology*. – 2017. – Vol. 61. – P. 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.021>.
19. Application of edible coating with essential oil in food preservation / J. Ju, Y. Xie, Y. Guo [et al.] // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2019. – Vol. 59, № 15. – P. 2467–2480. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1456402>.
20. Yuan, G. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems / G. Yuan, X. Chen, D. Li // *Food Research International*. – 2016. – Vol. 89. – P. 117–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.004>.
21. Pavela, R. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints / R. Pavela, G. Benelli // *Trends in Plant Science*. – 2016. – Vol. 21, № 12. – P. 1000–1007. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>.
22. Leukopenia prognosis by radiation therapy of patients with Hodgkin's disease / S. D. Ivanov, L. I. Korytova, V. A. Yamshanov [et al.] // *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. – 1997. – Vol. 16, № 2. – P. 183–188.
23. Sibirtsev, V. S. Fluorescent DNA probes: study of mechanisms of changes in spectral properties and features of practical application / V. S. Sibirtsev // *Biochemistry (Moscow)*. – 2007. – Vol. 72, № 8. – P. 887–900. <https://doi.org/10.1134/S0006297907080111>.
24. Use of impedance biotesting to assess the actions of pharmaceutical compounds on the growth of microorganisms / V. S. Sibirtsev, I. A. Naumov, E. E. Kuprina [et al.] // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2016. – Vol. 50, № 7. – P. 481–485. <https://doi.org/10.1007/s11094-016-1473-3>.
25. Sibirtsev, V. S. Biological test methods based on fluorometric genome analysis / V. S. Sibirtsev // *Journal of Optical Technology*. – 2017. – Vol. 84, № 11. – P. 787–791. <https://doi.org/10.1364/JOT.84.000787>.
26. Комплексная методика инструментального микробиотестирования экологической безопасности различной продукции, отходов и территорий / В. С. Сибирцев, М. В. Успенская, А. В. Гарабаджу [и др.] // *Доклады академии наук*. – 2019. – Т. 485, № 6. – С. 760–763. <https://doi.org/10.31857/S0869-56524856760-763>.

27. Sibirtsev, V. S. New method of integrated photofluorescence microbiotesting / V. S. Sibirtsev, A. V. Garabadgiu, V. I. Shvets // Doklady Biological Sciences. – 2019. – Vol. 489, № 1. – P. 196–199. <https://doi.org/10.1134/S0012496619060103>.
28. Korn, G. A. Mathematical handbook for scientists and engineers. Definitions, theorems and formulas for reference and review / G. A. Korn, T. Korn. – New York : McGraw-Hill, 1968. – 1150 p.
29. Johnson, K. J. Numerical Methods in Chemistry / K. J. Johnson. – New York : Dekker, 1980. – 503 p.

References

1. Sutherland J, Miles M, Hedderley D, Li J, Devoy S, Sutton K, et al. In *vitro* effects of food extracts on selected probiotic and pathogenic bacteria. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 2009;60(8):717–727. <https://doi.org/10.3109/09637480802165650>.
2. Das S, Anjeza C, Mandal S. Synergistic or additive antimicrobial activities of Indian spice and herbal extracts against pathogenic, probiotic and food-spoiler micro-organisms. International Food Research Journal. 2012;19(3):1185–1191.
3. Al-Zubairi AS, Al-Mamary MA, Al-Ghasani E. The antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of essential oil from different aromatic plants. Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Sciences. 2017;6(9):224–233.
4. Zhuravlev OE, Voronchikhina LI. Synthesis and antimicrobial activity of n-decylpyridinium salts with inorganic anions. Pharmaceutical Chemistry Journal. 2018;52(4):312–315. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1813-6>.
5. Luzhnova SA, Tyrkov AG, Gabitova NM, Yurtaeva EA. Synthesis and antimicrobial activity of 5-(arylmethylidene)-2,4,6-pyrimidine-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triones. Pharmaceutical Chemistry Journal. 2018;52(6):506–509. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1849-7>.
6. Rodino S, Butu M. Herbal extracts – new trends in functional and medicinal beverages. In: Grumezescu AM, Holban AM, editors. Functional and medicinal beverages. Volume 11: The science of beverages. Academic Press; 2019. pp. 73–108. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816397-9.00003-0>.
7. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food Microbiology. 2004;94(3):223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
8. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Waomar M. Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology. 2008;46(2):446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
9. Tripathi AK, Bhoyar PK, Baheti JR, Biyani DM, Khalique M, Kothmire MS, et al. Herbal antidiabetics: A review. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. 2011;2(1):30–37.
10. Fatima A, Alok S, Agarwal P, Singh PP, Verma A. Benefits of herbal extracts in cosmetics: a review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2013;4(10):3746–3760. [https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.4\(10\).3746-60](https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.4(10).3746-60).
11. Alok S, Jain SK, Verma A, Kumar M, Mahor A, Sabharwal M. Herbal antioxidant in clinical practice: a review. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2014;4(1):78–84. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60213-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60213-6).
12. Donsi F, Ferrari G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. Journal of Biotechnology. 2016;233:106–120. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.005>.
13. Radice M, Manfredini S, Ziosi P, Dissette V, Buso P, Fallacara A, et al. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review. Fitoterapia. 2016;114:144–162. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.09.003>.
14. Merghni A, Marzouki H, Hentati H, Aouni M, Mastouri M. Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. Current Research in Translational Medicine. 2016;64(1):29–34. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2015.10.003>.
15. Fani M, Kohanteb J. In vitro antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* essential oil against major oral pathogens. Journal of Evidence-Based Integrative Medicine. 2017;22(4):660–666. <https://doi.org/10.1177/2156587217700772>.
16. Kokina MS, Frioui M, Shamsyan MM, Sibirtsev VS, Krasnikova LV, Konusova VG, et al. Influence of *Pleurotus ostreatus* β -glucans on the growth and activity of certain lactic acid bacteria. Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry. 2018;19(4):465–471.
17. Atarés L, Chiralt A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. Trends in Food Science and Technology. 2016;48:51–62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.001>.
18. Ribeiro-Santos R, Andrade M, de Melo NR, Sanches-Silva A. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. Trends in Food Science and Technology. 2017;61:132–140. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.021>.
19. Ju J, Xie Y, Guo Y, Cheng Y, Qian H, Yao W. Application of edible coating with essential oil in food preservation. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2019;59(15):2467–2480. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1456402>.
20. Yuan G, Chen X, Li D. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. Food Research International. 2016;89:117–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.004>.
21. Pavela R, Benelli G. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. Trends in Plant Science. 2016;21(12):1000–1007. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>.

22. Ivanov SD, Korytova LI, Yamshanov VA, Ilyn NV, Sibirtsev VS. Leukopenia prognosis by radiation therapy of patients with Hodgkin's disease. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. 1997;16(2):183–188.
23. Sibirtsev VS. Fluorescent DNA probes: study of mechanisms of changes in spectral properties and features of practical application. *Biochemistry (Moscow)*. 2007;72(8):887–900. <https://doi.org/10.1134/S0006297907080111>.
24. Sibirtsev VS, Naumov IA, Kuprina EE, Olekhovich RO. Use of impedance biotesting to assess the actions of pharmaceutical compounds on the growth of microorganisms. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2016;50(7):481–485. <https://doi.org/10.1007/s11094-016-1473-3>.
25. Sibirtsev VS. Biological test methods based on fluorometric genome analysis. *Journal of Optical Technology*. 2017;84(11):787–791. <https://doi.org/10.1364/JOT.84.000787>.
26. Sibirtsev VS, Uspenskaya MV, Garabadiu AV, Shvets VI. An integrated method of instrumental microbiotesting of environmental safety of various products, wastes, and territories. *Doklady Akademii Nauk*. 2019;485(6):760–763. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0869-56524856760-763>.
27. Sibirtsev VS, Garabadiu AV, Shvets VI. New method of integrated photofluorescence microbiotesting. *Doklady Biological Sciences*. 2019;489(1):196–199. <https://doi.org/10.1134/S0012496619060103>.
28. Korn GA, Korn T. Mathematical handbook for scientists and engineers. Definitions, theorems and formulas for reference and review. New York: McGraw-Hill; 1968. 1150 p.
29. Johnson KJ. Numerical Methods in Chemistry. New York: Dekker; 1980. 503 p.

Сведения об авторах

Сибирцев Владимир Станиславович

канд. хим. наук, доцент, заведующий лабораторией технологии переработки продуктов биосинтеза, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок, 191014, Россия, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55, тел.: +7 (904) 601-59-78, e-mail: vs1969r@mail.ru
 <https://orcid.org/0000-0003-0829-5213>

Нечипоренко Ульяна Юрьевна

младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок, 191014, Россия, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55, e-mail: vs1969r@mail.ru
 <https://orcid.org/0000-0002-4102-1129>

Кабанов Владимир Леонидович

младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок, 191014, Россия, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55, e-mail: vs1969r@mail.ru
 <https://orcid.org/0000-0001-9085-2984>

Кукин Михаил Юрьевич

канд. техн. наук, научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок, 191014, Россия, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55, e-mail: vs1969r@mail.ru
 <https://orcid.org/0000-0003-1722-4644>

Information about the authors

Vladimir S. Sibirtsev

Cand.Sci.(Chem.), Associate Professor, Head of the Laboratory of Technology for Processing Biosynthesis Products, All-Russia Research Institute for Food Additives, 55, Liteiny Ave., St. Petersburg, 191014, Russia, phone: +7 (904) 601-59-78, e-mail: vs1969r@mail.ru
 <https://orcid.org/0000-0003-0829-5213>

Uliana Yu. Nechiporenko

Junior Researcher, All-Russia Research Institute for Food Additives, 55, Liteiny Ave., St. Petersburg, 191014, Russia, e-mail: vs1969r@mail.ru
 <https://orcid.org/0000-0002-4102-1129>

Vladimir L. Kabanov

Junior Researcher, All-Russia Research Institute for Food Additives, 55, Liteiny Ave., St. Petersburg, 191014, Russia, e-mail: vs1969r@mail.ru
 <https://orcid.org/0000-0001-9085-2984>

Mikhail Yu. Kukin

Cand.Sci.(Eng.), Research, All-Russia Research Institute for Food Additives, 55, Liteiny Ave., St. Petersburg, 191014, Russia, e-mail: vs1969r@mail.ru
 <https://orcid.org/0000-0003-1722-4644>