

ISSN 2712-7648

# HEALTH, FOOD & BIOTECHNOLOGY

VOLUME 4 ● ISSUE 4 ● DECEMBER 2022



**HFB**  
HEALTH, FOOD & BIOTECHNOLOGY

**№ 4 – 2022**

Периодичность издания – 4 номера в год

**Учредитель:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет» (РОСБИОТЕХ)

## **Редакция**

*Заведующий редакцией* – Тихонова  
Елена Викторовна

*Выпускающий редактор* – Косычева  
Марина Александровна

*Редактор по этике* – Косычева  
Марина Александровна

*Ответственный секретарь* – Лаптева  
Елена Александровна

*Медийный редактор* – Щербакова  
Екатерина Олеговна

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации средства массовой информации ЭЛ №ФС77-72959 от 25 мая 2018 г.

## **Адрес:**

125080, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11  
Тел. +7 (499) 750-01-11\*6585  
E-mail: hfb@mgupp.ru  
Официальный сайт учредителя: mgupp.ru  
Официальный сайт редакции: hfb-mgupp.com

© ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет» (РОСБИОТЕХ), 2022.

**№ 4 – 2022**

Periodicity of publication – 4 issues per year

**Founder:** Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Russian Biotechnological University» (BIOTECH University)

## **Editorial Team**

*Head of Editorial Team* – Elena V. Tikhonova

*Editor of Issue* – Marina A. Kosycheva

*Ethics Editor* – Marina A. Kosycheva

*Executive Secretary* – Elena A. Lapteva

*Social Media and Product Editor* – Ekaterina O. Shcherbakova

The Journal is registered by the Federal Service for Supervision in the Sphere of Communication, Information Technologies and Mass Media. The Mass Media Registration Certificate EL No FS77-72959 dated May 25, 2018.

## **Address::**

11, Volokolamskoe shosse, Moscow, Russian Federation, 125080  
Tel. +7 (499) 750-01-11\*6585  
E-mail: hfb@mgupp.ru  
Official web site of Founder: mgupp.ru  
Official web site of the Editorial Office: hfb-mgupp.com

© FSBEI HE «Russian Biotechnological University» (BIOTECH University) , 2022.

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

■ **ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР****Данильчук Татьяна Николаевна**Российский биотехнологический университет  
(РОСБИОТЕХ), Россия■ **ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА****Абдуллаева Асият Мухтаровна**Российский биотехнологический университет  
(РОСБИОТЕХ), Россия**Бычков Алексей Леонидович**Институт химии твёрдого тела и механохимии СО  
РАН, Россия**Данильчук Татьяна Николаевна**Российский биотехнологический университет  
(РОСБИОТЕХ), Россия**Игнар Штефан**

Варшавский университет естественных наук, Польша

**Игнатенко Григорий Анатольевич**Донецкий национальный медицинский университет  
им. М. Горького, ДНР**Кириш Ирина Анатольевна**Российский биотехнологический университет  
(РОСБИОТЕХ), Россия**Корокин Михаил Викторович**Белгородский национальный исследовательский  
университет, Белгород, Россия**Куркин Денис Владимирович**Московский государственный  
медико-стоматологический университет  
им. А. И. Евдокимова, Москва, Россия**Маль Галина Сергеевна**Курский государственный медицинский университет,  
Москва, Россия**Налетов Андрей Васильевич**Донецкий национальный медицинский университет  
им. М. Горького, ДНР**Сагян Ашот Серобович**Научно-производственный центр «Армбиотехнология»,  
НАН РА, Республика Армения**Самбандам Ананадан**

Национальный институт технологий, Индия

**Северинов Константин Викторович**Институт молекулярной генетики РАН, Институт  
биологии гена РАН, Россия**Фриас Йезус**

Дублинский технологический институт, Ирландия

**Цыганова Татьяна Борисовна**Российский биотехнологический университет  
(РОСБИОТЕХ), Россия**Чалых Татьяна Ивановна**Российский экономический университет  
им. Г.В. Плеханова, Россия**Щетинин Михаил Павлович**Российский биотехнологический университет  
(РОСБИОТЕХ), Россия

## EDITOR-IN-CHIEF

**Tatyana N. Danilchuk** Russian Biotechnological University (BIOTECH University)

## MEMBERS OF THE EDITORIAL BOARD

**Asiyat M. Abdullaeva** Russian Biotechnological University (BIOTECH University)

**Aleksey L. Bychkov** Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Russia

**Tatyana N. Danilchuk** Russian Biotechnological University (BIOTECH University)

**Jesus Frias** Dublin Institute of Technology, Ireland

**Stefan Ignar** Warsaw University of Life and Sciences, Poland

**Grigory A. Ignatenko** Donetsk National Medical University, DPR

**Irina A. Kirsh** Russian Biotechnological University (BIOTECH University)

**Mikhail V. Korokin** Belgorod national Research University, Belgorod, Russia

**Denis V. Kurkin** A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia.

**Galina. S Mal** Kursk State Medical University, Kursk, Russia

**Andrey V. Nalyotov** Donetsk National Medical University, DPR

**Ashot S. Saghyan** "Armbiotechnology" Scientific and Production Center NAS RA, National Academy of Sciences of the Republic of Armenia, Armenia

**Anandan Sambandam** National Institute of Technology of Tiruchirappalli, India

**Konstantin V. Severinov** Institute of Gene Biology Russian Academy of Sciences, Russia

**Mikhail P. Schetinin** Russian Biotechnological University (BIOTECH University)

**Tatyana I. Tchalykh** Russian University of Economics named after G. V. Plekhanov, Russia

**Tatyana B. Tsyganova** Russian Biotechnological University (BIOTECH University)

**РЕДАКТОРСКАЯ СТАТЬЯ**

- Е. В. Тихонова, М. А. Косычева*  
 Стратегии конструирования секции Результаты в оригинальной исследовательской статье ..... 6

**ЗДОРОВЬЕ**

- С. Ю. Зайцев, И. С. Зайцев*  
 Методы тензиометрии в оценке физиолого-биохимического статуса человека и ряда животных ..... 16
- Ю. А. Полковникова*  
 Разработка технологии липосомной лекарственной формы циннаризина ..... 35

**БИОТЕХНОЛОГИИ**

- А. В. Акулич, Т. Д. Самуйленко*  
 Исследование процесса сбраживания жидкой ржаной заварки и определение технологических параметров для дискретного режима производства сортов заварного хлеба ..... 41
- И. А. Кириш, И. С. Тверитникова, О. В. Безнаева, М. И. Губанова, О. А. Банникова, Т. И. Чалых*  
 Исследование влияния добавки «Полиматерия» на способность к биодеструкции полиэтиленовых пленок ..... 56
- К.- М. Альхатиб, Т. Н. Данильчук*  
 Использование протеолитических свойств биомассы молочнокислых микроорганизмов для создания новых продуктов питания ..... 65

**EDITORIAL**

<i>Elena V. Tikhonova, Marina A. Kosycheva</i> Design Strategies in Research Articles Results Section .....	6
--	---

**HEALTH**

<i>Sergei Yu. Zaitsev, Ilya S. Zaitsev</i> Methods of Dynamic Tensiometry in Assessing the Biochemical Status of Animals .....	16
<i>Yulia A. Polkovnikova</i> Development of Cinnarizine Liposome Technology .....	35

**BIOTECHNOLOGY**

<i>Alexander V. Akulich, Tatyana D. Samuylenko</i> Investigation of the Fermentation Process of Liquid Rye Sourdough and Determination of Technological Parameters for the Discrete Mode of Production of National Types of Bread.....	41
<i>Irina A. Kirsh, Izabella S. Tveritnikova, Olga V. Beznaeva, Marina I. Gubanova, Olga A. Bannikova, Tatyana I. Chalykh</i> Study of the Influence of the 'Polymateria' Additive on the Polyethylene Films Ability to Biodegrade .....	56
<i>Kamal- M. Alkhateeb, Tatyana N. Danilchuk</i> The Use of the Proteolytic Properties of the Biomass of Lactic Acid Microorganisms for the New Food Products Creation .....	65

<https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s163>

# Стратегии конструирования секции *Результаты* в оригинальной исследовательской статье

Е. В. Тихонова, М. А. Косычева

Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ),  
Москва, Россия

**Корреспонденция:**

**Косычева Марина Александровна**,  
Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ),  
125080, г. Москва,  
Волоколамское шоссе, 11,  
E-mail: kosychevama@mgupp.ru

**Конфликт интересов:**

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 28.12.2022

**Принята:** 28.12.2022

**Опубликована:** 30.12.2022

**Copyright:** © 2022 Авторы

## АННОТАЦИЯ

**Введение.** Функция секции Результаты исследовательской статьи - представлять данные, полученные в ходе исследования в систематизированном, лаконичном и визуализированном формате. Комментирование и обсуждение представленной информации препятствует объективному восприятию и может запутать читателя.

**Цель** редакторской статьи — представить ключевые стратегии написания секции Результаты научной статьи, которые помогут авторам корректно изложить результаты своего исследования и избежать типичных ошибок при конструировании этой секции исследовательской статьи.

**Стратегии конструирования секции.** На основании анализа моделей структурирования секции *Результаты* в научных статьях из разных предметных областей, предложен и проиллюстрирован эффективный вариант конструирования секции на примере журналов по пищевой тематике и здоровьесберегающим технологиям. Прокомментированы рекомендации по визуализации данных и их релевантному описанию в теле секции.

**Выводы.** Материалы данной редакторской статьи с рекомендациями по конструированию секции *Результаты* призваны помочь авторам эффективно представлять данные, собранные в ходе исследования (логично, кратко, прозрачно, визуализировано и объективно). Подобный подход не просто позволяет усилить воздействие статьи на читательскую аудиторию, но и способствует ее продвижению в наукометрических базах, усиливает ее значимость в контексте глобальной научной коммуникации.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

результаты исследования, визуализация данных, распространенные ошибки в представлении данных, систематизация данных



**Для цитирования:** Тихонова, Е.В., & Косычева, М.А. (2022). Стратегии конструирования секции результаты в оригинальной исследовательской статье. *Health, Food & Biotechnology*, 4(4), 6–15. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s163>

<https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s163>

# Design Strategies in Research Article Results Section

Elena V. Tikhonova, Marina A. Kosycheva

Russian Biotechnological University  
(BIOTECH University), Moscow, Russia

**Correspondence:**

**Marina A. Kosycheva,**  
Russian Biotechnological University,  
11 Volokolamskoe highway,  
Moscow, 125080, Russia  
E-mail: kosychevama@mgupp.ru

**Declaration of competing interest:**  
none declared.

**Received:** 28.12.2022

**Accepted:** 28.12.2022

**Published:** 30.12.2022

**Copyright:** © 2022 The Authors

## ABSTRACT

**Introduction.** The function of the Research Article Results section is to present the data obtained during the research in a systematic, concise, and visualized format. Commenting and discussing the information presented impedes objective perception and may confuse the reader.

**The purpose** is to present key strategies for writing the Research Article Results section that will help authors deliver their research results properly and avoid common mistakes when writing this section of a research article.

**Section construction strategies.** Based on the analysis of models for structuring the Research Article Results section from different fields, an efficient pattern of constructing a section is proposed and illustrated using the example from journals on food processing and health-saving technologies. Recommendations for data visualization and their relevant description in the body of the section are given.

**Conclusion.** The outcomes of this editorial and proposed guidelines for constructing the Results section, are intended to help authors efficiently present the data collected during the study (logically, concisely, transparently, visualized and objectively). Such an approach not only makes it possible to increase the impact of the article on the readership, but also contributes to its visibility in research databases, enhances its significance in the context of global scientific communication.

## KEYWORDS

research results, data visualization, common mistakes in data presentation, data systematization



**To cite:** Tikhonova, E. V., & Kosycheva, M. A. (2022). Research article results section: Highlights. *Health, Food & Biotechnology*, 4(4), 6–15. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s163>

Целью научного исследования является изучение, описание или объяснение какого-либо явления или процесса, предложение нового метода, решения конкретной задачи. В структуре научной статьи (IMRAD) секция *Результаты* призвана представить данные, полученные в ходе исследования. Эти данные должны быть описаны кратко, логично, последовательно, сопровождаться необходимыми комментариями и визуальными средствами. Начинающие авторы, как правило, не до конца понимают функцию секции: не структурируют информацию и пытаются интерпретировать полученные данные. Подобная тактика не является удачной: суть секции именно в ознакомлении читателя с полученными данными, следовательно, комментарии автора будут отвлекать читателя от сути части исследования. Для комментариев и полемики с предыдущими исследованиями по теме предназначена секция *Дискуссия / Обсуждение результатов*.

Логически организовать и четко описать данные, полученные в ходе исследования, помогают риторические шаги. Brett (1994), Basturkmen (2009), Lim (2011) и Hendrawan et al. (2022) исследуют возможности структурирования секции *Результаты* с точки зрения жанрового анализа<sup>1</sup> и риторической структуры<sup>2</sup>, конкретные ходы и шаги в ее структуре (Swales, 1990; Lim 2011). Количество шагов при описании результатов зависит от конвенций конкретной дисциплины (в одних дисциплинах принято подробное описание результатов, другие – ограничиваются перечислением). Оптимальным представляется анонсирование полученных данных, (1) описав структуру секции *Результаты* (на какие тематические подсекции разбита секция), (2) предоставив справочную информацию, связанную с описываемыми результатами, (3) повторив вопросы или цели исследования в новой итерации, (4) указав, где читатель может найти необходимые данные – в таблицах или на рисунках, представленных автором в ходе структурированного описания групп результатов (Lim, 2011; Basturkmen, 2009; Yang & Allison, 2003).

Проанализируем шаги, характерные для секции *Результаты*:

<sup>1</sup> Жанровый анализ представляет собой четкое описание порядка составления текстов, это исследование того, как язык используется в конкретном контексте. Жанры отличаются тем, что у каждого из них своя цель и они по-разному структурированы для достижения этих целей (Hopkins and DudleyEvans, 1988; Nyland 1992).

<sup>2</sup> Под риторической структурой понимается выбор соответствующей лексики и структуры предложения, которые являются частью стратегии, нацеленной на произведение впечатления на читателя.

Первый шаг *Представление структуры исследования*. Авторы предлагают читателям своего рода путеводитель, который поможет им ориентироваться в секции. Указанные шаги в исследовании далее будут описаны в соответствующих подсекциях секции *Результаты*.

Например,

**Мы охарактеризовали участников мелкого пресноводного и морского рыболовства и аквакультуры на основе 70 профилей (расширенные таблицы данных 1 и 2) ... Мы определили четыре ключевых параметра: ресурсы и активы; рынки и спрос; управление и организации; и специализация/диверсификация (методы, рис. 2 и расширенные данные, рис. 1). Затем был использован итеративный индуктивный подход, включающий два семинара с участием соавторов, для изучения разнообразия и изучения деталей каждого случая (рис. 2). Впоследствии был использован редуцированный подход для группировки характеристик в управляемый и репрезентативный базовый набор из восьми характеристик (рис. 3). Затем эти характеристики использовались для описания отдельных случаев (выбранные примеры представлены на рис. 3). Профили случаев также были изучены на предмет соответствующих угроз и возможностей (экологических, экономических, социальных, политических) как всеохватывающих факторов давления или рычагов, которые изменяют или усиливают характеристики субъекта (рис. 2 и таблица расширенных данных 3)<sup>3</sup>.**

Этот шаг может быть реализован и более компактно. Иногда авторы ограничиваются комментированием структуры секции. Например, *Секция Результаты подразделяется на подсекции (1) Актуализация цели исследования, (2) Предоставление поясняющей информации, (3) ... Далее описываются тематические подсекции, которые авторы выделили в блоках результатов с тем, чтобы читателям было проще разобраться, где обнаружить информацию по каждому из результатов*.

На этом этапе авторы используют метадискурсивные маркеры: выражения, облегчающие чтение и интерпретацию информации, понимание мотивации автора. Эти маркеры могут указывать на последующий подраздел, например, «следует», «за ним следует» и т. д.; описывать намерения авторов в процессе описания результатов: «рассматривать», «представлять», «иллюстрировать»,

<sup>3</sup> Short, R. E., Gelcich, S., Little, D. C., Micheli, F., Alison, E. H., Basurto, X., Belton, B., Brugere, C., Bush, S. R., Cao, L., Crona, B., Cohen, P. J., Defeo, O., Edwards, P., Ferguson, C. E., Franz, N., Golden, C. D., Halpern, B. S., Hazen, L., Hicks, C., Johnson, D., Kaminski, A. M., Mangubhai, S., Naylor, R. L., Reantaso, M., Sumaila, U. R.... & Zhang, W. (2021). Harnessing the diversity of small-scale actors is key to the future of aquatic food systems. *Nature Food*, 2, 733–741. <https://doi.org/10.1038/s43016-021-00363-0>

«описывать» и т. д. в сочетании с наречиями, «далее», «затем», «в третьем разделе». Таким образом, переход от описания результатов к их презентации становится более структурированным.

Второй шаг *Предоставление справочной информации* подводит читателя к пониманию результатов на основе данных, которые транслируют авторы. На этом шаге допустимо цитирование предыдущих исследований по теме. Следует принимать во внимание, что цитирование в секции *Результаты* имеет отличную от *Введения* и *Дискуссии* функцию, и необходимо лишь для того, чтобы помочь автору обосновать исследовательское предположение, которое нашло отражение в гипотезе или исследовательских вопросах (не комментируя его значимость и не сравнивая с предыдущими сходными результатами). Цель данного шага связать текущие данные с предыдущими открытиями и представить конкретные результаты.

Например,

*Первоначально информация о продовольственном балансе была доступна в ФАО для 186 нынешних и бывших стран и территорий, охватывающих 97,6 % населения мира в 2018 году, последнем году доступных данных продовольственных балансов на момент этого исследования (дополнительный рисунок 1а, b). Мы определили страны и годы с недостоверной отчетностью на основе межквартильного диапазона общей калорийности питания на душу населения, и обнаружили отсутствие данных по Антигуа и Барбуде за 1961–1964 годы, а также по Коморским островам и Сейшельским островам, которые были доступны только за 2014–2018 годы...<sup>4</sup>*

Третий шаг *Представление исследовательского вопроса или цели исследования в новой итерации* позволяет читателю глубиннее понять их суть сквозь призму полученных данных. Другими словами, авторы видоизменяют гипотезу исследования, представленную во *введении*. Подобный риторический ход помогает, во-первых, обратить внимание читателей на то, удалось ли авторам достичь конкретных предсказанных результатов, а во-вторых, сместить акценты на полученные конкретные закономерности. Метадискурсивные маркеры, наиболее часто используемые на данном этапе, включают, например, «предварительный анализ», «цели», «гипотеза», глаголы, с помощью которых можно описать исследование, например, «рассмотреть», «проанализировать» или часть придаточного предложения цели, например «чтобы исследовать», «чтобы проиллюстрировать».

<sup>4</sup> Lividini, K., & Masters, W.A. (2022). Tracing global flows of bioactive compounds from farm to fork in nutrient balance sheets can help guide intervention towards healthier food supplies. *Nature Food*, 3, 703–715. <https://doi.org/10.1038/s43016-022-00585-w>

Например, представление исследовательского вопроса во *Введении*: *Полагаем, что в литературе хорошо представлена вариативность концентрации питательных веществ в зависимости от условий роста, источника и времени измерения, а также вариативность, вызванная приготовлением и обработкой, а также изменения, которые регистрируются в этих базах данных. Как мы покажем далее, несмотря на эти неотъемлемые различия, все врожденные концентрации питательных веществ следуют универсальному распределению в пищевых продуктах, что влияет на доступ к питательным веществам<sup>5</sup>.*

Тогда секция *Результаты* в этой же научной статье может акцентировать исследовательский вопрос таким образом:

*Наша работа основана на гипотезе о том, что распределение питательных веществ в пищевых продуктах проявляется макроскопическими особенностями сетей биохимических реакций, характеризующих живые организмы. Следовательно, они могут проявлять универсальные черты. Используя данные о составе пищевых продуктов, собранные Министерством сельского хозяйства США, и кинетические константы из BRENDA<sup>6</sup>, мы показываем, как питательные вещества демонстрируют последовательное статистическое поведение, предсказуемое исходя из основных биохимических принципов<sup>7</sup>.*

Авторы достаточно часто используют повтор исследовательских вопросов для разбивки результатов по соответствующим подсекциям внутри секции *Результаты*, соответствующим группам / наборам полученных результатов. Подобное разграничение помогает, во-первых, продемонстрировать смещение фокуса автора на отдельные группы результатов на разных этапах исследования, а во-вторых, помогают систематизировать полученные результаты (Lim, 2011). Например, последующие подсекции из приведенного примера называются согласно поставленным целям: *Придание официального статуса питательному составу пищи; Универсальный закон определения объема питательных веществ; Био-*

<sup>5</sup> Menichetti, G., & Barabási, A. L. (2022). Nutrient concentrations in food display universal behaviour. *Nature Food*, 3, 375–382. <https://doi.org/10.1038/s43016-022-00511-0>

<sup>6</sup> BRENDA — это основная коллекция данных о функционировании ферментов, доступных научному сообществу. Сервис доступен бесплатно через Интернет ([www.brenda-enzymes.org](http://www.brenda-enzymes.org)) и в виде внутренней базы данных для коммерческих пользователей.

<sup>7</sup> Menichetti, G., & Barabási, A. L. (2022). Nutrient concentrations in food display universal behaviour. *Nature Food*, 3, 375–382. <https://doi.org/10.1038/s43016-022-00511-0>

химическое происхождение определения объема питательных веществ.<sup>8</sup>

Четвертый шаг *Указание местоположения данных и структурированное представление результатов* использует локативы<sup>9</sup> для локализации полученных данных в том случае, когда их легче сопоставить друг с другом через таблицы и диаграммы. В английском языке, ввиду фиксированного порядка следования членов предложения, существуют определенные рамки, определяющие характер представления информации. Таким образом, в англоязычном дискурсе авторам предлагается набор клишированных выражений, облегчающий процесс представления полученных данных. В русском языке, несмотря на относительно свободный порядок слов, также следует придерживаться прямого порядка слов, а именно, предложение должно начинаться с подлежащего, за которым следует сказуемое, а новая информация должна вводиться после анонсирования уже известной, например, «полученные данные представлены на рисунке/ таблице...», «результаты представлены в таблице и ранжированы...», «на диаграмме показаны...».

Для того, чтобы сориентировать читателя, авторам рекомендуется начинать предложение именно с указания местоположения данных, например, *В Таблице 2 представлены основные результаты по определению максимальной и минимальной оптовой цены, а также показатели ликвидности цен.*<sup>10</sup> Для отсылки к результатам используются глаголы «отображает», «резюмирует», «показывает», «представляет». Подобные предложения чаще всего безличные со сказуемым в страдательном залоге. Например, *Клинические проявления НР представлены на рисунке 2. Целесообразно отметить высокую частоту развития аллергических реакций немедленного типа (48 случаев, 84,2%), среди которых преобладали местные аллергические реакции в виде крапивницы, гиперемии, уртикарной сыпи (45 случаев, 79%). Аллергические реакции немедленного типа, представляющие угрозу жизни пациента, наблюдались в 3 случаях: 2 случая (3,5%) развития ангионевротического отека (отека Квинке) и 1 слу-*

*чай анафилактического шока на фоне введения препаратов интерферона альфа2b*<sup>11</sup>.

Рекомендуется излагать материалы объективно, без комментариев. Вместе с тем, авторам необходимо помнить, что большое количество необработанных и неупорядоченных данных может ввести читателя в заблуждение. Отсюда, необходимо систематизировать данные для их эффективного представления в секции *Результаты*: организовывать данные в таблицы и графики, сопровождать их рисунками. Для демонстрации полученных величин используют таблицы, а для отслеживания тенденций и взаимосвязи применяют рисунки и диаграммы (Кононов, 2002).

Каждое научное издание придерживается определенного стиля оформления и цитирования, которое предполагает определенные правила составления негромоздких и понятных таблиц и рисунков. Поэтому важно ознакомиться с существующими шаблонами и руководствами, чтобы максимально удобно и понятно для читателя систематизировать полученные результаты. Например, *Руководство APA*<sup>12</sup> требует, чтобы номер таблицы был выделен жирным шрифтом и располагался над таблицей, краткое название было выделено курсивом под таблицей, отсутствовали вертикальные линии, присутствовали минимальное количество горизонтальных линий четкие лаконичные метки для заголовков столбцов и строк. Например,

**Таблица 1**

*Число мальчиков и девочек по возрастным группам*

Класс	Мальчики	Девочки
4	115	126
5	130	119
6	117	124
Total	362	169

*Примечание.* Адаптировано из *Example Book*, by J. Smith, 2016, p.115. Copyright 2016 by Scribbr<sup>13</sup>.

<sup>8</sup> Menichetti, G., & Barabási, A. L. (2022). Nutrient concentrations in food display universal behaviour. *Nature Food*, 3, 375–382. <https://doi.org/10.1038/s43016-022-00511-0>

<sup>9</sup> Указатели местонахождения данных

<sup>10</sup> Абдуллаев, М. А., Гречухин, А. И., Орлова, Е. А., Кантемирова, Б. И. (2021). Фармакоэкономический анализ доступности ингаляционных лекарственных средств, применяемых в лечении ХОБЛ. *Health, Food & Biotechnology*, 3(4), 16–28. <https://doi.org/10.36107/hfb.2021.i4.s112>

<sup>11</sup> Матвеев, А. В., Егоров, Е. А., Корянова, К. Н., Бекирова, Э. Ю., & Сулейманова, Н. Л. (2021). Безопасность препаратов группы интерферонов: ретроспективный анализ спонтанных сообщений о нежелательных реакциях, зарегистрированных в Республике Крым. *Health, Food & Biotechnology*, 3(3), 17–24. <https://doi.org/10.36107/hfb.2021.i3.s117>

<sup>12</sup> Tables and Figures. <https://apastyle.apa.org/style-grammar-guidelines/tables-figures>

<sup>13</sup> APA Format for Tables and Figures. Annotated Examples. <https://www.scribbr.com/apa-style/tables-and-figures/>

Кроме того, существуют и общие рекомендации и технические приемы по созданию таблиц: рекомендуется использовать минимальное количество строк; подбирать корректные названия для таблиц и подробно описывать легенду под рисунками и графиками; отслеживать, имеются ли в тексте отсылки к средствам визуализации, последовательно ли они расположены.

Если таблица или рисунок нуждаются в дополнительных пояснениях, то их включают в примечания. Однако следует помнить о том, что легенда не должна включать анализ данных, ее назначение помочь понять таблицу или рисунок, поэтому примечания должны быть максимально краткими. Принято различать примечания трех видов: общие (general notes), особые (specific notes) и вероятностные (probability notes). Каждый тип примечаний начинается с нового абзаца. Общие примечания идут первыми, им предшествует слово «примечание», выделенное курсивом, за которым следует точка. Это могут быть любые пояснения, применимые к таблице или рисунку в целом, и цитату, в случае если она была адаптирована из другого источника, и заканчиваются определениями любых используемых сокращений. Например,

*Примечание.* В этом исследовании респондентов попросили оценить свою удовлетворенность. Адаптировано из Example Book, J. Smith, 2014, p. 234. Copyright 2016 издательства Оксфордского университета. SL = уровень удовлетворенности<sup>14</sup>.

Особые примечания относятся к определенным точкам в таблице или на рисунке. Это надстрочные буквы (a, b, c...), которые появляются в соответствующих точках таблицы или рисунка, их указывают в начале каждого примечания, чтобы читатель понимал к чему они относятся. Они используются, когда необходимо прокомментировать конкретную точку данных или термин.

Например,

<sup>a</sup> n = 350. <sup>b</sup> Пять респондентов не смогли заполнить эту часть опроса<sup>15</sup>.

В примечаниях о вероятности указаны *p*-значения для данных в таблице или на рисунке. Они соответствуют звездочкам (и/или другим символам) в таблице или на рисунке.

Например,

<sup>14</sup> APA Format for Tables and Figures. Annotated Examples. <https://www.scribbr.com/apa-style/tables-and-figures/>

<sup>15</sup> Там же

\**p* < .05. \*\**p* < .01<sup>16</sup>.

Визуализация данных в целом требует пристального внимания. К примеру, не рекомендуется идентифицировать графики данных только по цветам, поскольку они могут выглядеть по-разному на разных экранах и в глазах людей с нарушениями цветовосприятия.

Благодаря широкой доступности компьютерного программного обеспечения и инструментов проектирования сегодня ученые визуализируют свои данные с помощью множества красочных и визуально привлекательных графиков. Когда графики содержат несколько наборов данных, обычной практикой является использование графиков разного цвета для отличия одного набора данных от другого. При этом не берется во внимание не только проблема цветовосприятия, но и что статья может быть распечатана на черно-белом принтере. Редакторы рекомендуют для представления нескольких наборов данных использовать символы, сплошные/штриховые/пунктирные линии, а также надписи и подписи (Biegel & Kamat, 2021b).

Важно отметить, что в статье имеет значение не количество цифр или объем данных, а их представление и оформление в качестве результатов. Читатели часто судят о достоинстве исследования, основываясь на тщательности подготовки рисунков и описания легенды, потому что, если рисунки и графики представлены небрежно, возникает вопрос, каким может оказаться качество самого исследования (Biegel & Kamat, 2019).

Описание данных в подписи к рисунку должно обеспечивать полное изложение основных результатов эксперимента/теории, обсуждаемых в тексте. Включение экспериментальных условий или параметров, использованных в расчетах, сделает рисунок самостоятельным. Подпись к рисунку с расплывчатыми или краткими общими заявлениями не предоставит рецензентам или читателям достаточно информации для оценки данных (Biegel & Kamat, 2021a). Также рисунки не следует рассматривать как место для скопления необработанных данных. Любые результаты, которые не обсуждаются в основном тексте более подробно, должны быть помещены в Приложения (Kamat, 2022).

Корректное описание содержащейся в таблицах, графиках и рисунках информации так же значительно повышает читабельность статьи. Авторам не рекомендуется в тексте статьи просто повторно перечислять данные, которые представлены посредством средств визуализации данных. Вместо этого необходимо проанализировать распределение ключевых переменных, а именно выделить связь между зависимыми и независимыми

<sup>16</sup> Там же

переменными в таблицах, графиках, диаграммах и рисунках, обобщить полученные данные и представить логический результат, свидетельствующий о том, достигнуты ли были цели исследования, которые были упомянуты во введении.

Например,

Нами был проведен корреляционный анализ взаимосвязи показателя «Количество производителей» и показателя  $C_{liq}$ . В Таблице 4 представлены основные результаты корреляционного анализа. Наблюдаемая зависимость показателя  $C_{liq}$  от показателя «Количество производителей» описывается уравнением парной линейной регрессии:  $YC_{liq} = 4,604 \cdot X_{\text{количество производителей}} + 2,37$ . Был проведен анализ показателя  $C_{a,s}$  в зависимости от показателя «Производитель». Показатель «Производитель» имел два значения (Таблица 5): преобладание отечественных препаратов («о»), либо преобладание зарубежных ЛП («з»). Исходя из полученных данных при оценке показателя  $C_{a,s}$  в зависимости от показателя «Производитель», нами были установлены статистически значимые различия ( $p = 0,007$ ) (используемый метод:  $U$ -критерий Манна–Уитни)<sup>17</sup>.

К распространенным ошибкам в представлении результатов исследования в научных статьях относят:

(1) Некорректный подбор для визуализации типа средства визуализации. Например, диаграмма рассеяния полезна для отображения многомерных данных, с ее помощью можно определить потенциальные взаимосвязи между количественными переменными. Гистограммы применяют в исследованиях рядов распределения значений случайной величины. График служит наглядным представлением зависимости одной величины от другой. Диаграмму используют в качестве графического изображения, которое показывает соотношение каких-либо величин. Таблицы относительно просты в использовании, иногда они состоят только из нескольких столбцов и строк или упорядоченных иерархий. Подобное свойство таблиц облегчает понимание, исключая чтение данные в длинных предложениях. Преимущество таблиц в том, что они взаимодействуют с вербальной системой, последовательно обрабатывая информацию. Возможность чтения данных вниз по столбцам или по рядам чисел облегчает сравнение данных рядом, а, следовательно, облегчает понимание и позволяет сделать выводы.

<sup>17</sup> Абдуллаев, М. А., Гречухин, А. И., Орлова, Е. А., & Кантемирова, Б. И. (2021). Фармакоэкономический анализ доступности ингаляционных лекарственных средств, применяемых в лечении ХОБЛ. *Health, Food & Biotechnology*, 3(4), 16–28. <https://doi.org/10.36107/hfb.2021.i4.s112>

- (2) Отсутствие опоры на требования конкретного стиля при оформлении рукописи.
- (3) Неинформативное название.
- (4) Дублирование информации средств визуализации текстом.
- (5) Отсутствие структурирования секции *Результаты* на подсекции.
- (6) Синкретичное описание данных, полученных в ходе исследования, их смешение с обсуждением полученных результатов.

Проанализируем секцию *Результаты* статьи Xiong et al. (2022) «Occurrence of aflatoxin M1 in three types of milk from Xinjiang, China, and the risk of exposure for milk consumers in different age-sex groups». Важно отметить, что статья вносит безусловный вклад в развитие отрасли и ее научная ценность не вызывает сомнений. Мы позволим себе сделать некоторые замечания по организационной структуре секции *Результаты*, при этом никаким образом не стремимся умалить научную значимость данного исследования.

Авторы не следуют всем шагам, характерным для структурирования секции *Результаты*, вместе с тем, многие из них инкорпорированы в текст.

- (1) *Представление структуры исследования*  
Авторы представляют результаты, разделив их по группам: (1) *Наличие AFM1 в пробах молока* и (2) *Оценка риска воздействия в различных возрастных и половых группах*<sup>18</sup>. Это позволяет читателю ориентироваться в тексте секции, что облегчает обнаружение ответа на поставленные исследовательские вопросы. Однако авторы не используют вводящего предложения с описанием структуры секции *Результаты*, которое помогло бы контролировать поток представления полученных результатов.
- (2) *Предоставление справочной информации*  
В статье не содержится информация, подводящая читателя к более эффективному пониманию результатов. Секция начинается с непосредственного представления полученных данных.
- (3) *Реитеррация исследовательского вопроса и цели исследования*  
Авторы также не включили в текст секции и исследовательский вопрос / цели исследования с тем, чтобы показать преломление полученных данных через их призму. Если принять во внимание, что авторы опустили три важных риторических шага, то содержание данной секции не может быть воспринято читателем, если он не ознакомится как минимум с введением.

<sup>18</sup> Здесь и далее по тексту перевод авторов статьи.

(4) Указание местоположения данных в процессе структурированного описания групп данных

Полученные данные представлены авторами структурированно с выделением подсекций – (1) Наличие AFM1 в пробах молока и (2) Оценка риска воздействия в различных возрастных и половых группах. Внутри каждой подсекции данные приведены в сравнении, показаны концентрации относительно средней величины, и они также сопровождаются легко читаемой таблицей<sup>19</sup>:

(1) **Наличие AFM1<sup>20</sup> в пробах молока.** В данном исследовании было проанализировано в общей сложности 259 образцов молока на наличие AFM1, при этом 84 (32,4%) образца имели уровни, превышающие предел обнаружения 5 нг/л (таблица 1 и таблица S1). Из 189 проб коровьего молока 84 (44,4%) были положительными на AFM1 со средней концентрацией 7,6 нг/л и максимальным содержанием 16,5 нг/л. Для пастеризованного молока из общего числа 93 образцов 40 (43,0%) были AFM1-положительными с максимальным уровнем 11,3 нг/л и средним значением 7,4 нг/л. Для молока с длительным сроком хранения из 96 образцов 44 (45,8%) были положительными на AFM1; максимальное загрязнение составило 16,5 нг/л, а среднее значение – 7,8 нг/л. Не было обнаружено статистической разницы ( $p > 0,05$ ) в содержании AFM1 между пастеризованным молоком и молоком с длительным сроком хранения. Примечательно, что в ослином молоке из 70 проанализированных образцов ни один не содержал AFM1 выше предела обнаружения 5 нг/л. Содержание AFM1 в протестированных образцах коровьего и ослиного молока, не превышали максимального уровня ни в Китае, ни в Европейском Союзе.

Несмотря на то, что авторы не следуют всем традиционным шагам, они, описывая вторую группу полученных результатов, упоминают существующее исследование Kuiper-Goodman<sup>21</sup>, косвенно реализуя шаг *Представление справочной информации*. В данном случае цитирование не является элементом дискуссии, так как призвано лишь продемонстрировать соответствие полученных показателей базовым величинам:

Например,

(2) **Оценка риска воздействия в различных возрастных и половых группах.** Рассчитанную суточную дозу

оценивали по воздействию AFM1 на потребителей молока в различных половозрастных группах (таблица 2). Диапазоны среднего, 75%-го перцентиля и 95%-ного перцентиля значений рассчитанной суточной дозы в десяти возрастных группах составляли 0,008–0,053, 0,011–0,078 и 0,017–0,114 нг/кг мт/сут соответственно, что меньше предела риска 0,2 нг/кг мт/сутки, о которых сообщает Kuiper-Goodman (1990) [19], и соответствует таковому у мужчин, потребляющих молоко. Вышеупомянутые значения рассчитанной суточной дозы у потребителей-женщин составляли 0,009–0,050, 0,013–0,073 и 0,019–0,108 нг/кг массы тела/сутки соответственно. Самые высокие значения рассчитанной суточной дозы были обнаружены у детей в возрасте от 2 до 4 лет, при этом значения для мужчин и женщин составляли 0,053 против 0,050, 0,078 против 0,073 и 0,114 против 0,108 нг/кг мт/сутки для среднего значения и 75% и 95% перцентилей соответственно. Более того, самые низкие значения рассчитанной суточной дозы (включая среднее значение, 75%-й перцентиль и 95%-й перцентиль) были обнаружены у взрослых в возрасте 30–40 лет; они были ниже 10% предела риска в 0,2 нг/кг массы тела/сутки.

В следующем абзаце этой же тематической подсекции локативы помогают читателю оперативно сориентироваться в представляемой информации:

Для дальнейшего анализа коэффициент рискованности (HQ) и предел воздействия (MOE) разных половозрастных групп были проанализированы и нанесены на график, как показано на Рисунке 1 и Рисунке 2. Среди 10 различных возрастных групп потребители молока в возрастной группе 30–45 лет имели самый низкий HQ. HQ постепенно снижались с возрастом у потребителей молока до этой возрастной группы, тогда как они увеличивались с возрастом у потребителей молока после этой возрастной группы. Мы наблюдали аналогичную тенденцию HQ у мужчин и женщин, потребляющих молоко, и HQ были одинаковыми у десяти разных возрастных групп мужчин и женщин, потребляющих молоко.

Важно, что авторы не дублируют информацию из средств визуализации, а комментируют их, вписывая в логику авторского повествования. Легенда к средствам визуализации описана очень подробно, предоставляя читателям всю необходимую информацию.

Рис. 2. Изменение значений предела воздействия (MOE) AFM1 на потребителей молока в разных половозрастных группах. Средние значения предела воздействия для каждой возрастной группы были ниже 10 000, что указывает на то, что потребители молока в целом подвергались низкому риску для здоровья, в то время как некоторые перделы воздействия, включая 75% и 95% перцентили значений предела воздействия для

<sup>19</sup> <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/23/3922>

<sup>20</sup> Афлатоксин М1 (афлатоксин М1 обнаруживается не только в цельном молоке, но и в восстановленном, в твороге, сырах, йогурте. Загрязненная афлатоксином М1 молочная продукция экологически опасна для человека)

<sup>21</sup> Kuiper-Goodman, T. (1990). Uncertainties in the risk assessment of three mycotoxins: Aflatoxin, ochratoxin, and zearalenone. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 68, 1017–1024.

детей в возрасте 2–4 лет и 95% % перцентиля значений предела воздействия для детей в возрасте 4–7 лет были ниже 10 000, что указывает на то, что потребители молока в некоторой степени подвергались риску для здоровья. Примечание: (1) Для расчета предполагаемого суточного потребления предполагалось, что концентрации в образцах молока, отрицательных по AFM1, составляют 2,5 нг/л (половина предела обнаружения 5 нг/л), из которых среднее значение составляет 75%. перцентили и 95% перцентили концентрации были рассчитаны как 4,78, 7,04 и 10,32 нг/л, соответственно. Затем эти концентрации использовались для расчета соответствующих значений суточного потребления. (2) пределы воздействия = (570 нг/кг массы тела/день)/рассчитанная суточная доза, где значение 570 нг/кг массы тела/день является эталонной дозой, основанной на результатах теста воздействия AFM1 на крыс Fischer [22]. (3) Если расчетное значение предела воздействия больше или равно 10 000, молоко AFM1 представляет небольшой риск для здоровья, а если значение предела воздействия меньше 10 000, оно представляет потенциальный риск для здоровья.

Более структурированное представление легенды упростило бы навигацию по ее тексту. Возможно, представленный подход не противоречит политике журнала в оформлении средств визуализации, однако разведение названия и примечаний, а также вынесение комментариев в текст рукописи предотвратили бы эффект громоздкости. Второй рисунок также сопровождается объемным комментарием, который дублируется в финальном абзаце: *Примечательно, что, хотя значения коэффициента рискованности для каждой возрастной группы показали, что потребители молока были подвержены низкому риску, некоторые значения предела воздействия, включая 75-процентные и 95-процентные перцентили значений предела воздействия для детей в возрасте 2–4 лет и 95-процентный перцентиль значений предела воздействия для детей в возрасте 4–7 лет находились в зоне риска, что свидетельствует о том, что потребители молока в определенной степени подвергались риску для здоровья. В целом динамика значений предела воздействия и коэффициента рискованности была одинаковой во всех возрастно-половых группах.*

Работа авторов с метадискурсивными маркерами представляется эффективной. Авторы используют простые по структуре предложения. Отсылка к визуализированным данным реализуется посредством глаголов в страдательном залоге, как например «были показаны», «были проанализированы», «проанализированы и нанесены на график». Взаимосвязь переменных описана

с использованием оценочной лексики<sup>22</sup>: «максимальный», «наивысший», «больше», «позитивный». Также авторы используют сигналы перехода, обеспечивающие логику и последовательность в представлении информации, например, «соответственно», «примечательно, что...», «в общем».

В целом, структурирование секции на подсекции работает эффективно, упрощая восприятие информации. Несмотря на то, что в данной статье авторам удалось достаточно полно описать полученные данные, соблюдение последовательности всех предлагаемых шагов обеспечило бы большую глубинность считывания информации, в том числе и имплицитно.

Многие журналы допускают совмещение секций *Результаты* и *Дискуссия* в одной секции. Данный шаг обоснован далеко не всегда, особенно для авторов, академическая грамотность которых еще не характеризуется сформированностью. Четкость и последовательность представления полученных данных может пострадать. Многие авторы маскируют недостаточную проработанность данных имитацией дискуссии. Таким образом, ни набор данных, ни их вписывание в существующую картину знаний по теме не получают должного воплощения. В отдельных исследованиях развести результаты и их обсуждение, практически невозможно. Но там, где это возможно, наличие двух секций скорее усиливает рукопись, делает информацию более понятной для читателей.

В качестве рекомендаций авторам редакторы журнала *Health Food & Biotechnology* предлагают выработку стратегии конструирования секции *Результаты*. Даже простейший корпусный анализ успешных статей в предметной области способен продемонстрировать потенциал корректно структурированной секции *Результаты* в сравнении с хаотично описанными данными у неуспешных статей. Отсюда вызывают удивление стойкое игнорирование отдельными авторами подробно описанных шагов по эффективной организации представления данных в секции *Результаты*.

<sup>22</sup> *Оценочная лексика – слова, в значении которых есть оценка, положительная или отрицательная, характеристика предмета или признака действия.*

## ЛИТЕРАТУРА

- Кононов, А. В. (2002). Оформление результатов научных исследований: искусство или технология. *Омский научный вестник*, (18), 262–265.
- Brett, P. (1994). A genre analysis of the Results section of sociology articles. *English for Specific Purposes*, 13(1), 47–59.
- Basturkmen, H. (2009). Commenting on results in published research articles and masters dissertations in Language Teaching. *Journal of English for Academic Purposes*, 8(4), 241–251. <https://doi.org/10.1016/j.jeap.2009.07.001>
- Biegel, C. M., & Kamat, P. V. (2019). ten tips for capturing figures with captions. *ACS Energy Letters*, 4(3), 637–638. <https://doi.org/10.1021/acsenerylett.9b00253>
- Biegel, C. M., & Kamat, P. V. (2021a). Five common pitfalls to avoid while composing scientific figures. *ACS Energy Letters*, 6(12), 4309–4310. <https://doi.org/10.1021/acsenerylett.1c02401>
- Biegel, C. M., & Kamat, P. V. (2021b). Three simple ways to identify data sets in a figure. *ACS Energy Letters*, 6(3), 1148–1149. <https://doi.org/10.1021/acsenerylett.1c00415>
- Hendrawan, W., Sujatna, E. T. S., Krisnawati, E., & Darmayanti, N. (2022). Didactic oriented study: Move and transitivity analysis of method, result, and discussion sections in research articles. *European Journal of Educational Research*, 11(3), 1259–1272. <https://doi.org/10.12973/eujer.11.3.1259>
- Hopkins, A., & DudleyEvans, T. (1988). A genre-based investigation of the discussions sections in articles and dissertation. *English for Specific Purposes*, 7(2), 113122. [https://doi.org/10.1016/0889-4906\(88\)90029-4](https://doi.org/10.1016/0889-4906(88)90029-4)
- Hyland, K. (1992). Genre analysis: just another fad? *Forum*, 30(2), 1–17.
- Kamat, P. V. (2022). The lost art of composing single-panel figures. *ACS Energy Letters*, 7(7), 2407–2409. <https://doi.org/10.1021/acsenerylett.2c01441>
- Lim, J. M.-H. (2011). Paving the way for research findings: Writers' rhetorical choices in education and applied linguistics. *Discourse Studies*, 13(6), 725–749. <https://doi.org/10.1177/1461445611421364>
- Xiong, J., Chen, F., Zhang, J., Ao, W., Zhou, X., Yang, H., Wu, Z., Wu, L., Wang, C., & Qiu, Y. (2022). Occurrence of aflatoxin M1 in three types of milk from Xinjiang, China, and the risk of exposure for milk consumers in different age-sex groups. *Foods*, 11, 3922. <https://doi.org/10.3390/foods11233922>
- Yang, R., & Allison, D. (2003). Research articles in applied linguistics: moving from results to conclusions. *English for Specific Purposes*, 22, 365–385.

## REFERENCES

- Kononov, A. V. (2002). Presentation of the results of scientific research: art or technology. *Omskij nauchnyj vestnik [Omsk Scientific Bulletin]*, (18), 262–265.
- Brett, P. (1994). A genre analysis of the Results section of sociology articles. *English for Specific Purposes*, 13(1), 47–59.
- Basturkmen, H. (2009). Commenting on results in published research articles and masters dissertations in Language Teaching. *Journal of English for Academic Purposes*, 8(4), 241–251. <https://doi.org/10.1016/j.jeap.2009.07.001>
- Biegel, C. M., & Kamat, P. V. (2019). ten tips for capturing figures with captions. *ACS Energy Letters*, 4(3), 637–638. <https://doi.org/10.1021/acsenerylett.9b00253>
- Biegel, C. M., & Kamat, P. V. (2021a). Five common pitfalls to avoid while composing scientific figures. *ACS Energy Letters*, 6(12), 4309–4310. <https://doi.org/10.1021/acsenerylett.1c02401>
- Biegel, C. M., & Kamat, P. V. (2021b). Three simple ways to identify data sets in a figure. *ACS Energy Letters*, 6(3), 1148–1149. <https://doi.org/10.1021/acsenerylett.1c00415>
- Hendrawan, W., Sujatna, E. T. S., Krisnawati, E., & Darmayanti, N. (2022). Didactic oriented study: Move and transitivity analysis of method, result, and discussion sections in research articles. *European Journal of Educational Research*, 11(3), 1259–1272. <https://doi.org/10.12973/eujer.11.3.1259>
- Hopkins, A., & DudleyEvans, T. (1988). A genre-based investigation of the discussions sections in articles and dissertation. *English for Specific Purposes*, 7(2), 113122. [https://doi.org/10.1016/0889-4906\(88\)90029-4](https://doi.org/10.1016/0889-4906(88)90029-4)
- Hyland, K. (1992). Genre analysis: just another fad? *Forum*, 30(2), 1–17.
- Kamat, P. V. (2022). The lost art of composing single-panel figures. *ACS Energy Letters*, 7(7), 2407–2409. <https://doi.org/10.1021/acsenerylett.2c01441>
- Lim, J. M.-H. (2011). Paving the way for research findings: Writers' rhetorical choices in education and applied linguistics. *Discourse Studies*, 13(6), 725–749. <https://doi.org/10.1177/1461445611421364>
- Xiong, J., Chen, F., Zhang, J., Ao, W., Zhou, X., Yang, H., Wu, Z., Wu, L., Wang, C., & Qiu, Y. (2022). Occurrence of aflatoxin M1 in three types of milk from Xinjiang, China, and the risk of exposure for milk consumers in different age-sex groups. *Foods*, 11, 3922. <https://doi.org/10.3390/foods11233922>
- Yang, R., & Allison, D. (2003). Research articles in applied linguistics: moving from results to conclusions. *English for Specific Purposes*, 22, 365–385.

<https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s154>

УДК 61.619+61.612+636.03УДК 61.619+61.612+636.03

# Методы тензиометрии в оценке физиолого-биохимического статуса человека и ряда животных

С. Ю. Зайцев<sup>1</sup>, И. С. Зайцев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Москва, Россия

<sup>2</sup> Департамент по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и пожарной безопасности города Москвы, Москва, Россия

## Корреспонденция:

**Зайцев Сергей Юрьевич**

Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), 125080, г. Москва, Волоколамское ш., 11.  
E-mail: s.y.zaitsev@mail.ru

## Конфликт интересов:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов

Поступила: 08.11.2022

Принята: 18.12.2022

Опубликована: 30.12.2022

Copyright: © 2022 Авторы

## АННОТАЦИЯ

**Введение.** Существующая литература исследует разнообразные аспекты как метода динамической тензиометрии на базе измерения динамического поверхностного натяжения (ДПН) крови, так и его использования в оценке биохимических и физиологических параметров животных. Несмотря на доказанную пользу методов ДПН в медицине человека, эти методы недооценены в современной физико-химической биологии и ветеринарии.

**Цель.** В связи с этим целью обзора является описание методологических основ определения ДПН биологических жидкостей животных, выявление его особенностей в зависимости от физиологического состояния организма, биохимического состава сыворотки крови при совершенствовании методов ранней диагностики болезней животных.

**Материалы и методы.** Материалами служат научные статьи, описывающие образцы сыворотки крови человека, лошадей и коров, проанализированные двумя методами динамической тензиометрии.

**Результаты.** В результате проведен подробный анализ 84 исследований, связанных как с методами ДПН, так и с их использованием в оценке параметров крови, который позволил выявить корреляции ДПН и биохимических параметров крови человека, лошадей и коров. В дополнение к изложению особенностей измерения разных методов динамической тензиометрии, в обзоре предметного поля обобщены их эмпирически выявленные предпосылки и последствия в этой области. Как для коров, так и для кобыл наблюдается большое количество сильных корреляционных связей между биохимическими показателями и ДПН крови.

**Выводы.** Таким образом, изменения биохимии крови, связанные со структурно-функциональным развитием животных в онтогенезе согласуются с изменениями значений ДПН крови, что отражается в величинах корреляций и дает возможность практического использования полученных фундаментальных результатов.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

биохимия и физиология животных, методы диагностики, динамическая тензиометрия, поверхностное натяжение крови

**Для цитирования:** Зайцев, С. Ю., & Зайцев, И. С. (2022). Методы тензиометрии в оценке физиолого-биохимического статуса человека и ряда животных. *Health, Food & Biotechnology*, 4(4), 16–34. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s154>

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках темы номер FSMF-2022-0003 (Министерства высшего образования и науки Российской Федерации) научно-исследовательской лаборатории офтальмологии, онкологии и биохимии животных ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» (Москва, Россия).



<https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s154>

# Methods of Dynamic Tensiometry in Assessing the Biochemical Status of Animals

Sergei Yu. Zaitsev<sup>1</sup>, Ilya S. Zaitsev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Russian Biotechnological University (BIOTECH University), Moscow, Russia

<sup>2</sup> Moscow Department for Civil Defense, Emergency Situations and Fire safety, Moscow, Russia

**Correspondence:**

**Sergei Yu. Zaitsev**,  
Russian Biotechnological University  
(BIOTECH University), 11, Volokolamskoe  
sh., Moscow, 125080, Russia.  
E-mail: s.y.zaitsev@mail.ru

**Declaration of competing interest:**  
none declared.

**Received:** 08.11.2022  
**Accepted:** 18.12.2022  
**Published:** 30.12.2022

**Copyright:** © 2022 The Authors

## ABSTRACT

**Introduction.** The existing literature explores various aspects of both the method of dynamic tensiometry based on the measurement of dynamic surface tension (DST) of blood, and its use in assessing the biochemical and physiological parameters of animals. Despite the proven usefulness of DPN methods in human medicine, these methods are underestimated in modern physicochemical biology and veterinary medicine.

**Purpose.** In this regard, the aim of the review is to describe the methodological foundations for determining the DPN of animal biological fluids, identifying its features depending on the physiological state of the organism, the biochemical composition of blood serum while improving methods for the early diagnosis of animal diseases.

**Materials and Methods.** The materials are research articles describing blood serum samples of humans, horses and cows, analyzed by two methods of dynamic tensiometry.

**Results.** As a result, a detailed analysis of 84 studies related both to DPN methods and their use in assessing blood parameters was carried out, which made it possible to identify correlations between DPN and biochemical blood parameters in humans, horses and cows. In addition to presenting the measurement features of different methods of dynamic tensiometry, the review of the subject field summarizes their empirically identified prerequisites and consequences in this area. Both for cows and mares, there are a large number of strong correlations between biochemical parameters and blood DPN.

**Conclusion.** Thus, changes in blood biochemistry associated with the structural and functional development of animals in ontogeny are consistent with changes in blood DPN values, which is reflected in the magnitudes of correlations and makes it possible to apply the obtained fundamental results in practice.

## KEYWORDS

biochemistry and physiology of animals, diagnostic methods, dynamic tensiometry, blood surface tension

**To cite:** Zaitsev, S. Yu., & Zaitsev, I. S. (2022). Methods of tensiometry in assessing the physiological and biochemical status of humans and a number of animals. *Health, Food & Biotechnology*, 4(4), 16–34. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s154>

**Funding.** The research was done within the framework of the project FSMF-2022-0003 (Ministry of Higher Education and Science of the Russian Federation) of the Research Laboratory of Ophthalmology, Oncology and Animal Biochemistry of the Russian Biotechnological University (BIOTECH University) (Moscow, Russia).



## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время всё более очевидной становится значимость определения интегрального биохимического статуса (ИБС) животного при определении физиологических процессов развития и жизнедеятельности его органов, тканей, систем и организма в целом (Зайцев, 2017; Казаков, 2000; Кононский, 1992; Лысов & Максимов, 2004; Хазипов и соавт., 2010; Kaneko et al., 2008; Zaitsev, 2016). ИБС животного определяется складывающимися на определённый период концентрациями липидов, белков и других соединений, обладающих поверхностной активностью (ПАВ) в крови, в тканях и органах (Барсуков, 1998; Зайцев, 2016; Казаков и соавт., 2003; Campbell & Farrell, 2010; Garrett & Grisham, 2005; Nelson & Cox, 2005; Zaitsev et al., 2011; Zaitsev et al., 2020). ПАВ обладают способностью адсорбироваться на жидких границах раздела фаз и изменять поверхностное натяжение (Зайцев, 2007; Русанов & Прохоров, 1994; Zaitsev, 2015). В организме человека и животных многие физиолого-биохимические процессы происходят на границе раздела фаз с участием ПАВ (Барсуков, 1998; Зайцев, 2015; Зарудная и соавт., 2011; Казаков и соавт., 1995; Zaitsev et al., 2011): связывание кислорода и выделение диоксида углерода, стадии адсорбции и десорбции липидов и белков на межфазной поверхности, функционирование ферментных систем дыхательной цепи митохондрий и другие (Зайцев, 2010; Зарудная и соавт., 2010). У животных и человека многочисленные ПАВ биологических жидкостей образуют адсорбционные монослои (Clark et al., 1995; Grigoriev et al., 1996) на границе раздела фаз (Dan et al., 2015; Douillard et al., 1994), для которых характерны повышение давления при сжатии и гистерезис после расширения (Зайцев, 2006). Эти свойства биологических жидкостей изменяются для больных пациентов (Казаков и соавт., 1997), причём особенно значимо на фоне изменения содержания основных ПАВ в среде биожидкостей (Hrncir & Rosina, 1997; Хомутов и соавт., 2022). Выраженная разбалансировка белкового, углеводного и электролитного гомеостаза (Fathi-Azarbayjani & Jouyban, 2015), которая происходит во время болезни и приводит к изменению физико-химических свойств биологических жидкостей и их динамического поверхностного натяжения (ДПН) (Казаков и соавт., 1999).

В последние годы проведены исследования ДПН сыворотки крови, желчи, мочи, околоплодных вод, респираторной влаги, желудочного сока, слюны, спинномозгового и синовиального ликвора при разных временах существования поверхности раздела фаз у здоровых (Казаков и соавт., 1996) и больных людей (Kazakov et al., 2000; Потапов и соавт., 2021), установлена зависимость между данными ДПН и клиническим течением заболеваний (Казаков, 2000). Изучение ДПН биологических жидкостей (Kazakov et al., 2000), в частности сыворот-

ки крови, зависимости его от качественного и количественного состава крови у человека (Hrncir & Rosina, 1997); и животных (Казаков, 2000) может дать ценную уникальную информацию для ранней оценки ИБС организма (Казаков, 2000) и диагностики его нарушения (Kazakov et al., 2000).

В связи с этим целями и задачами конкретного обзора является описание методологических основ определения ДПН биологических жидкостей животных, выявление его особенностей в зависимости от физиологического состояния организма, биохимического состава сыворотки крови, что является важным направлением в области совершенствования методов ранней диагностики болезней животных.

## МЕТОДОЛОГИЯ

### Материалы

В обзор были включены статьи, опубликованные на русском, английском и немецком языках в электронных базах данных РНИЦ (<https://www.elibrary.ru/defaultx.asp>), Scopus и WoS. Дополнительно, поиск информации проводился в сборниках конференций по исследуемой тематике (на русском, английском и немецком языках). Поиск был ограничен периодом с 1992 по 2022 год; дата начала соответствует времени, когда стали появляться систематические исследования по динамической тензиометрии крови человека и животных. В центре внимания были статьи, опубликованные в научных журналах, прошедшие процедуру рецензирования, подтверждающую ее качество. При этом статьи имели достаточно высокий индекс цитирования (процитированы в базах данных не менее десяти раз). Статьи из тематических конференций и монографии отбирались исходя из такого же количества их цитирований при обнаружении по следующим ключевым словам: биохимия и физиология животных, методы диагностики, динамическая тензиометрия, поверхностное натяжение крови. Неакадемические материалы о ДПН крови человека и животных не были включены в обзор, т. к. труднодоступны и процитированы в базах данных менее десяти раз.

### Процедура исследования

Первичное сканирование баз данных РНИЦ, Scopus и WoS при помощи ключевых слов «биохимия и физиология животных», «методы диагностики», «динамическая тензиометрия», «поверхностное натяжение крови» и их комбинаций, помогло выявить ряд исследований с заданным индексом цитирования. Далее источники были ранжированы в рамках исследуемого временного промежутка. На следующем этапе нами были проана-

лизированы пристатейные списки литературы в выделенных нами для анализа статьях с целью определения их важности и актуальности. Далее нами были проанализированы материалы важнейших профильных конференций за указанный период времени с тем, чтобы дополнить информацию, полученную из статей. Подбор материалов конференций реализовывался по ключевым словам «биохимия и физиология животных», «методы диагностики», «динамическая тензиометрия», «поверхностное натяжение крови» и их комбинаций. В результате этого итеративного поиска было выделено 84 исследования. Выявленные в результате анализа данные и аспекты (при помощи указанных выше ключевых слов) были включены в специальную базу данных. Чтобы классифицировать характер и содержание отобранных исследований, были использованы четыре основные категории критериев: библиографические данные, используемые методологии, концептуальные основы и эмпирические данные.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Методы измерения поверхностного натяжения

Известны десятки методов изучения поверхностного натяжения (ПН), которые основаны 1) на прямом измерении капиллярных сил, действующих на искривлённые или плоские поверхности: метод Дю-Нуи (Русанов, 1994), метод Вильгельми (Paulsson & Dejmek, 1992), метод Ленгмюра (Зайцев, 2006; Фадеев и соавт., 2008; Zaitsev & Solovyeva 2015; Zaitsev et al., 2015), метод капиллярного поднятия (Крылов, 2008), метод статической и динамической капли (Ferri et al., 2001) и другие; 2) анализе формы жидкой поверхности: методы осцилирующей и суживающейся струи (Chen et al., 1998), методы формы капли или пузырька (Hansen & Myrvold, 1995; Chen et al., 1998) и другие; 3) разности давлений над искривленной поверхностью: метод максимального давления в пузырьке (Fainerman & Miller, 2004; Dixit et al., 2012), метод растущей капли (Hansen & Myrvold, 1995) и т.д. (Зайцев, 2016; 2015; 2010). Одним из первых способов исследования жидкостей был метод максимального давления в пузырьке (Fainerman et al., 2004; Fainerman et al., 2006) с помощью прибора Ребиндера (Русанов, 1994). Затем было предложено изучение ПН методом отрыва кольца по Дю-Нуи (Русанов, 1994) и уравнивания пластинок (Зайцев, 2016).

Все способы определения ПН делятся на статические и динамические (Fainerman & Miller, 2004; Butler & Foty, 2011). В статических методах ПН определяется у сформировавшейся поверхности, находящейся в равновесии (Nikolov & Wasan, 2004). Динамические методы ПН связаны с разрушением поверхностного слоя (Pitois et

al., 2005). В случае измерения ПН растворов полимеров (Niño & Patino, 1998) или ПАВ (Fainerman et al., 2004; Dixit et al., 2012), обычно пользуются статическими методами. В ряде случаев равновесие на поверхности может наступать в течение нескольких часов (например, в случае концентрированных растворов полимеров с высокой вязкостью). Динамические методы могут быть применены для определения не только ДПН биожидкостей, особенно растворов белков (Serrien et al., 1992; Makievski et al., 1999; Miller et al., 2001; Miller et al., 2005); оценки ПАВ в альвеолах легких (Robertson et al., 1992; Robertson & Tlusch, 1995), но и равновесного ПН таких систем (Makievski et al., 1997). Например, для растворов стандартных ПАВ после перемешивания ПН равно 58 Дж/м<sup>2</sup> (Miller et al., 1993), а после длительного отстаивания — 35 Дж/м<sup>2</sup> (Makievski et al., 1997), то есть поверхностное натяжение изменяется существенно (почти на 40–66 %).

В последние двадцать лет перспективно использовать сочетание нескольких физико-химических методов исследования (Möbius & Miller, 2001) с многопараметрическим анализом и коррекцией данных ДПН (Fainerman et al., 2004). Например, тензиометрии и колебательной спектроскопии — для изучения свойств и активности ферментов (De Brito et al., 2015) и липидных ультратонких пленок (Derde et al., 2015); тензиометрии и температуры (Rosina et al., 2007); электромагнитного излучения с чрезвычайно высокими частотами для изучения параметров крови лабораторных животных (Mikaelyan, 2014); реологических (Dan et al., 2015) и высокоэластических (Noskov & Loglio, 1998; Noskov, 2002) параметров мицеллярных растворов ПАВ.

Для исследования биологических жидкостей в большей степени подходят два метода: максимального давления в пузырьке и метод висящей капли. Метод максимального давления в пузырьке позволяет получать кривую ДПН в диапазоне времени от 0,01 до 100 секунд с воспроизводимостью не менее 0,2 % (Fainerman et al., 2006). В настоящее время выпускается несколько типов приборов, работающих по этому методу PBS (Electronetics Comp., США), Sensadyn (Chem Dyne Research Corp., США), ВРА-1Р (Sinterface Technologies, ФРГ), МРТ2 (Lauda, ФРГ). Адаптированные для измерения биологических жидкостей приборы проводят измерения объёма жидкости до 1 мл (Fainerman et al., 2004).

Преимуществом метода висящей капли является малый объём анализируемой жидкости (менее 0,5 мл), простое и удобное термостатирование пробы, широкий диапазон измерений времени существования капли (от 10 до 10 000 с и более), что дополняет возможности метода максимального давления в пузырьке (Fainerman et al., 2004). Приборы, работающие по этому методу: ADSA-Toronto (Канада), PAT-1 (Sinterface Technologies, ФРГ). Комбинация двух методов, позволяет проводить изме-

рения ДПН во временном интервале от 10–3 до 104 секунд (Fainerman et al., 2006).

### **Динамическое поверхностное натяжение сыворотки крови лошадей**

Одним из показателей функционального становления системы крови в процессе постнатального развития животных является характер и степень изменения ДПН сыворотки крови (Зайцев, 2016). Исследованиями выявлены определённые закономерные возрастные и половые изменения ДПН сыворотки крови животных, в частности – лошадей (Милаёва и соавт., 2006). У месячных жеребят (кобылок) значения ДПН существенно изменяются с возрастом. Так, у кобылок (1 месяц) значения  $\sigma_1$ – $\sigma_3$  на 2–15 % ниже, а значение  $\lambda_0$  (на 70–103 %) выше по сравнению со взрослыми кобылами (Таблица 1).

После периода интенсивного роста и адаптации к новым условиям значения ДПН сыворотки крови у кобыл 2 лет отличаются от кобылок по следующим показателям: значения  $\sigma_1$ – $\sigma_3$  и  $\lambda_1$  выше на 3–6 и 13 % соответственно, значение  $\lambda_0$  ниже на 103 %. У 3 летних кобыл по сравнению с кобылками все значения выше на 5–7 %. В возрасте 4 лет у кобыл выше, чем у кобылок только значения  $\sigma_1$  и  $\sigma_2$  на 3 и 7 %, а  $\sigma_3$  для этих групп животных отличаются незначительно. Существенные отличия получены для значений углов наклона тензиограмм, поскольку эти значения получены на широком интервале при экстраполяции зависимостей ДПН от времени. Так, у 4-летних животных они на 80 % ( $\lambda_0$ ) и 50 % ( $\lambda_1$ ) выше у животных 4 лет. Для 5 летних кобыл отмечаются более высокие значения  $\sigma_0$ – $\sigma_3$ , они выше на 2–8 %,  $\lambda_0$  и  $\lambda_1$  также более высокие, но разница не так велика, как у 4 летних животных, углы наклона больше на 40 и 60 %. Для 6 летних и животных старшей возрастной группы наблюдаются более высокие показатели ДПН, они на 2–6 % выше, чем у кобылок, углы наклона выше у взрослых животных на 50 %.

Таким образом, рост и развитие организма кобыл сопровождается увеличением значений  $\sigma_0$ ,  $\sigma_2$  для взрос-

лых животных на 6–10 %. Значения  $\sigma_3$  для взрослых животных незначительно (на 0,5–1,5 %) выше, чем значения, полученные для кобылок, только в возрасте трёх лет  $\sigma_3$  выше всех других значений на 7 %. Значения  $\lambda_0$  для кобылок значительно выше, чем для взрослых животных, с возрастом оно изменяется незначительно (ниже на 60–80 % только значения для кобыл 3 и 4 лет). Значения  $\lambda_1$  для кобылок и животных в возрасте 2–3 лет существенно (на 50–70 %) ниже, чем для животных старшего возраста.

Следовательно, рост и развитие, адаптация организма у лошадей в постнатальный период сопровождаются закономерными изменениями в системе крови, поверхностного натяжения сыворотки плазмы крови, связанными со степенью функциональной активности системы.

Известно, что самки по особенностям физиологических отправления организма отличаются от самцов, что проявляется в их организме с возрастом (Зайцев, 2016). Сравнительный анализ результатов определений ДПН крови кобыл и жеребцов позволил выявить ряд существенных особенностей в его становлении (Таблицы 1 и 2).

Для кобыл значения  $\sigma_1$  снижаются на 2,6 % до 4 лет, затем резко увеличиваются на 6 % (5 лет), а потом снижаются на 3 % с увеличением возраста животных. Для жеребцов отмечаются близкие значения  $\sigma_1$  в возрасте 2, 4 и 5 лет (74,1–73,7 мН/м) и выше на 3 % значения в возрасте 3, 6 лет и старше (76,0–76,3 мН/м). Значения  $\sigma_2$  для кобыл повышаются на 2 % с возрастом от 2 до 8 лет и несколько снижаются до 73,0 мН/м только для животных старше 10 лет (Таблицы 1 и 2). Значения  $\sigma_2$  у жеребцов мало изменяются с возрастом и незначительно ниже, чем у кобыл, кроме 3 лет и старше 10 лет, когда значения  $\sigma_2$  у жеребцов значительно (на 3 %) увеличиваются. Значения  $\sigma_3$  для кобыл и для жеребцов близки (от 62,2 до 63,3 мН/м у жеребцов и от 61,8 до 62,8 мН/м у кобыл) для всех возрастных групп, более высокие значения получены только для 3 летних животных.

**Таблица 1**

Средние значения (знач.) ДПН сыворотки крови кобылок и кобыл разного возраста (адаптировано из Зайцев, 2016)

Знач.	1 мес.	2 года	3 года	4 года	5 лет	6 лет	>10 лет
$\sigma_1$ , мН/м	71,1 ± 0,6	75,5 ± 1,2	74,5 ± 1,6	73,5 ± 0,5	77,9 ± 1,1	76,5 ± 1,1	75,5 ± 0,5
$\sigma_2$ , мН/м	68,7 ± 0,3	72,5 ± 1,3	72,3 ± 1,5	73,3 ± 1,1	73,9 ± 0,9	73,8 ± 1,2	73,0 ± 1,0
$\sigma_3$ , мН/м	61,1 ± 0,7	62,8 ± 0,9	65,6 ± 1,3	61,8 ± 0,7	62,7 ± 1,3	63,2 ± 0,7	62,5 ± 1,2
$\lambda_0$ , мН · м <sup>-1</sup> с <sup>1/2</sup>	9,5 ± 0,2	4,7 ± 0,2	3,6 ± 0,6	1,9 ± 0,4	5,4 ± 0,7	4,7 ± 0,3	4,9 ± 1,1
$\lambda_1$ , мН · м <sup>-1</sup> с <sup>1/2</sup>	7,8 ± 0,2	9,0 ± 0,4	7,4 ± 0,3	11,9 ± 0,8	12,9 ± 0,4	12,2 ± 0,5	11,7 ± 1,6

Примечание. Параметры  $\sigma_0$ ,  $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$  и  $\sigma_3$  (мН/м) – величины ДПН при временах 1,0, 10 и 100 сек. Параметры  $\lambda_0$  и  $\lambda_1$  (м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup>) – величины, полученные при экстраполяции зависимостей ДПН от времени (тензиограмм) на начальном и конечном участках тензиограмм.

**Таблица 2**

Средние значения (знач.) ДПН крови жеребцов разного возраста (адаптировано из Зайцев, 2016)

Знач.	2 года	3 года	4 года	5 лет	6 лет	>10 лет
$\sigma_1$ , мН/м	74,1 ± 1,2	76,0 ± 1,3	73,9 ± 0,9	73,7 ± 0,7	76,3 ± 1,9	76,1 ± 1,1
$\sigma_2$ , мН/м	71,8 ± 1,6	73,5 ± 0,8	70,5 ± 2,1	72,1 ± 1,2	72,9 ± 1,3	74,5 ± 1,1
$\sigma_3$ , мН/м	63,1 ± 1,0	66,7 ± 1,5	62,85 ± 2,06	62,2 ± 1,4	62,3 ± 1,5	63,3 ± 1,1
$\lambda_0$ , мН · м <sup>-1</sup> с <sup>1/2</sup>	5,9 ± 0,2	5,6 ± 0,3	5,3 ± 0,8	4,7 ± 0,5	5,3 ± 0,2	4,5 ± 0,3
$\lambda_1$ , мН · м <sup>-1</sup> с <sup>1/2</sup>	9,6 ± 1,0	7,6 ± 0,5	8,1 ± 0,7	10,3 ± 0,3	12,3 ± 0,6	12,5 ± 0,1

Примечание. Параметры  $\sigma_0$ ,  $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$  и  $\sigma_3$  (мН/м) – величины ДПН при временах 1,0, 10 и 100 сек. Параметры  $\lambda_0$  и  $\lambda_1$  (м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup>) – величины, полученные при экстраполяции зависимостей ДПН от времени (тензиограмм) на начальном и конечном участках тензиограмм.

Значения  $\lambda_0$  для кобыл с возрастом снижаются от 4,7 мН · м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup> (2 летние) до 1,9 мН · м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup> (4 летние), потом повышаются до 5,4 мН · м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup> в возрасте 5 лет и дальше изменяются незначительно. Значения  $\lambda_0$  для жеребцов существенно не изменяются (от 4,5 мН · м<sup>-1</sup>с<sup>-1/2</sup> старше 10 лет до 5,9 мН · м<sup>-1</sup>с<sup>-1/2</sup> – 2 летние). Значения  $\lambda_1$  для кобыл более низкие в 2 и 3 года (9,0 и 7,4 мН · м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup> соответственно), для других групп практически одинаковы от 11,9 мН · м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup> до 12,9 мН · м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup>. Значения  $\lambda_1$  для жеребцов снижаются до 4 лет от 9,6 до 8,1 мН · м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup>, а с 5 лет повышаются на 54 % до 10,3 мН · м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup> и продолжают увеличиваться до 12,5 мН · м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup> в возрастной группе старше 10 лет (Таблицы 1 и 2).

При сравнении показателей ДПН для жеребцов и кобыл одного возраста были получены следующие данные. Для 2 летних животных у кобыл выше значения  $\sigma_1$ – $\sigma_3$  на 2–4 % и ниже значение  $\lambda_0$  на 25 % и  $\lambda_1$  на 6 %, значения  $\sigma_0$  отличаются незначительно. Для 3 летних животных все значения ДПН для кобыл ниже на 5 %, а значения углов наклона на 50 и 2 %. В возрасте 4 лет все значения ДПН ниже для кобыл, наиболее существенно снижаются значения  $\sigma_2$  и  $\sigma_3$  на 4 %. Значение  $\lambda_0$  для кобыл ниже на 60 %, а  $\lambda_1$  – выше на 30 %. Для 5 летних животных все полученные значения ДПН выше на 3–5 %, значения углов наклона на 25–30 % для кобыл. У 6 летних животных отличаются только значения  $\sigma_2$  и  $\sigma_3$ , они на 4 и 5 %

выше и кобыл, а также значения  $\lambda_0$ , у кобыл они ниже на 15 %. В возрасте старше 10 лет для жеребцов все значения ДПН выше на 3–5 %, чем у кобыл,  $\lambda_0$  на 2 % выше у кобыл, а  $\lambda_1$  – на 7 % у жеребцов (Таблицы 1 и 2).

Таким образом, ДПН крови имеет особенности, зависящие от пола животного. Различия в значениях ДПН с возрастом у кобыл и жеребцов связаны с отличием во времени физиологического созревания и начала интенсивного тренинга для достижения призовых результатов, угол наклона  $\lambda_0$  может служить специфическим показателем, который изменяется в зависимости от пола животного (например, может достоверно отличаться даже при отсутствии отличий в значениях  $\sigma_1$ – $\sigma_3$ ).

### Динамическое поверхностное натяжение сыворотки крови крупного рогатого скота

У крупного рогатого скота параметры ДПН сыворотки крови с возрастом претерпевают существенные изменения (Зайцев, 2016). Наступление половой зрелости и достижение телочками 12 месячного возраста приводит к адаптивным изменениям параметров ДПН, так,  $\sigma_1$ – $\sigma_3$  увеличиваются на 3–5 %, а значения коэффициента наклона кривой в области малых времен существования поверхности ( $\lambda_0$ ), напротив, снижаются на 47 % (Таблица 3).

**Таблица 3**

Средние значения (знач.) ДПН сыворотки крови крупного рогатого скота (адаптировано из Зайцев, 2016)

Знач.	тёлки, 6 мес.	тёлки, 12 мес.	тёлки, 17 мес.	нетели, 5 мес.*	коровы, 2 мес.*	коровы, 6 мес.*
$\sigma_1$ , мН/м	71,91 ± 0,43	73,52 ± 0,14	73,08 ± 0,48	72,86 ± 0,23	73,09 ± 0,51	72,45 ± 0,39
$\sigma_2$ , мН/м	66,80 ± 0,30	70,11 ± 0,42	69,86 ± 0,76	66,10 ± 0,48	64,24 ± 0,43	65,62 ± 0,37
$\sigma_3$ , мН/м	61,19 ± 0,66	64,35 ± 0,64	62,22 ± 0,55	60,45 ± 0,59	56,80 ± 0,59	58,97 ± 0,69
$\lambda_0$ , мН · м <sup>-1</sup> с <sup>-1/2</sup>	5,96 ± 0,15	3,16 ± 0,39	4,59 ± 0,39	6,07 ± 0,28	5,47 ± 0,36	7,33 ± 0,36
$\lambda_1$ , мН · м <sup>-1</sup> с <sup>1/2</sup>	6,12 ± 0,23	5,70 ± 0,49	7,34 ± 0,38	6,79 ± 0,29	9,14 ± 0,35	7,98 ± 0,60

Примечание. Параметры  $\sigma_0$ ,  $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$  и  $\sigma_3$  (мН/м) – величины ДПН при временах 1,0, 10 и 100 сек. Параметры  $\lambda_0$  и  $\lambda_1$  (м<sup>-1</sup>с<sup>1/2</sup>) – величины, полученные при экстраполяции зависимостей ДПН от времени (тензиограмм) на начальном и конечном участках тензиограмм. \* месяц стельности.

К моменту наступления физиологической зрелости (18 мес.) значения  $\sigma_3$  снижаются на 3 %, а  $\lambda_0$  и  $\lambda_1$  повышаются на 48 % и 28 % соответственно. Конечно, различные патологии, например, заражение вирусом бычьего лейкоза изменяет некоторые гематологические и биохимические показатели крови у коров (Sandev et al., 2013), что сказывается и на показателях тензиометрии (Зайцев, 2016).

Наступление беременности сопровождается многочисленными сложными изменениями в организме самок, что создает оптимальные условия для внутриутробного развития плода. Обмен веществ при беременности подвергается особенно значительным изменениям, что связано с перестройкой функций нервной системы и желез внутренней секреции. При беременности ряд содержащихся в крови биологически-активных веществ существенно изменяется по количеству и по активности, это приводит к изменениям значений ДПН сыворотки крови стельных животных. У коров, находящихся на 1–2 месяце стельности, значения параметров  $\sigma_2$ – $\sigma_3$  снижаются на 5 %,  $\lambda_1$  – на 24 %, а значения  $\lambda_0$  повышается на 20 % по сравнению с тёлками 17–18 месяцев. Нетели и коровы на 5–6 месяце стельности имеют значения ДПН выше на 3–6 % ( $\sigma_2$  – на 2,5 %,  $\sigma_3$  – на 6 и 3,6 % соответственно) и  $\lambda_0$  (выше на 10 и 25 % соответственно), и более низкие значения  $\lambda_1$  (соответственно на 35 и 15 % ниже) по сравнению с коровами, находящимися на 1–2 месяце стельности (Таблица 3).

Таким образом, у лошадей и крупного рогатого скота происходит изменение в системе крови в связи с возрастом, полом, физиологическим состоянием, которое отражается в изменении параметров ДПН.

### **Биохимические показатели сыворотки крови животных**

Биохимические исследования получили широкое распространение в XX веке и на сегодняшний день являются наиболее популярным методом лабораторной диагностики общего состояния организма животных (Kaneko et al., 2008; Зайцев, 2016). Они позволяют получать данные об изменении физиолого-биохимического состава крови, недостаток макро- и микроэлементов, выявлять изменение гормонального фона и другое. Химический состав сыворотки крови очень сложен. Из неорганических веществ в сыворотке содержится около 90 % воды и около 1 % соли. Главное место среди солей в крови животных (в том числе – КРС и лошадей) принадлежит хлориду натрия: содержание натрия в сыворотке крови 139,2–148,7 ммоль/л, а хлора – 109–112 ммоль/л. Это в 10–15 раз больше, чем содержание других солей: К (4,3–5,1 ммоль/л), Са (2,4–2,6 ммоль/л) и Mg (1,2–1,4 ммоль/л), находятся в крови в форме хло-

ридов, фосфатов и карбонатов. Концентрации этих солей в сыворотке крови животных разных видов отличается незначительно, а их соотношение поддерживается постоянным.

До 7–8 % всех веществ в плазме крови приходится на белки, которых содержится несколько десятков видов: сывороточный альбумин, различные типы глобулинов, фибриноген и другие. Все белки плазмы делятся на группы, самые большие из них – альбумины и глобулины. Так, показатель «общий белок» в крови КРС 60–86 г/л, включая фракции альбуминов 28–42 г/л и глобулинов 31–44 г/л. Соотношение между ними (белковый коэффициент) является величиной постоянной для данного вида и отличается у животных разных видов. Например, белковый коэффициент для лошадей и крупного рогатого скота – несколько меньше единицы.

Кроме всех веществ, перечисленных выше, в крови находятся гормоны (адреналин, серкетин и др.), ферменты (амилаза, каталаза и др.), иммунные вещества (антитела, лизины, аглутинины, преципитины и др.), витамины, пигменты и др. Содержание ферментов значительно варьируется у животных разного вида. Из углеводов в крови находится, прежде всего, глюкоза (в концентрации от 2 до 6 мМ в зависимости от вида животного). Существенное значение имеют липиды (лецитин, холестерин, триглицериды). Например, у лошадей биохимические показатели сыворотки крови по-разному изменяются в процессе онтогенеза у жеребцов и у кобыл (Максимов и соавт., 2006).

Для кобыл 2–4 лет и старше 10 лет уровень общего белка на 30 % выше, чем в возрасте 5–6 лет, уровень альбуминов у 2 и 4 летних выше на 50 %; уровень триглицеридов у 2 и 6 летних животных выше на 75 и 42 %, уровень холестерина у 2 летних на 80 %, уровень глюкозы у кобыл старше 3 лет выше в 2,5 раза, уровень мочевины выше у 4 и 6 летних на 44 %, уровень кальция ниже у 5 и 6 летних кобыл на 30 %, а уровень калия на 22 %, уровень натрия выше у 2 и 4 летних кобыл на 42 %, уровень хлоридов ниже у 2, 3 летних кобыл на 13 %. В возрасте 3 лет происходит повышение уровня мочевины на 8 %, калия на 5 % и снижение уровня белков на 15–20 %, триглицеридов и холестерина в 3 раза, кальция на 4 %, натрия на 60 %, хлоридов на 40 % по сравнению с двухлетними кобылами. В возрасте 4 лет у кобыл повышается уровень альбуминов на 20 %, глюкозы в 3,5 раза, мочевины на 65 %, калия на 12 %, хлоридов на 18 %, снижается уровень общего белка на 16 %, триглицеридов и холестерина в 1,5 раза, кальция на 26 %, натрия на 8 %. В возрасте 5 лет снижается уровень общего белка в 1,5 раза, альбуминов на 65 %, триглицеридов на 20 %, холестерина в 1,5 раза, кальция на 12 %, калия на 10 %, натрия на 42 %, повышается уровень мочевины на 45 %, глюкозы в 3,5 раза, хлоридов на 18 %. У животных 6 лет и старше наблюдается снижение уровня общего белка и альбуминов на 10–25 %,

триглицеридов на 7–12 %, холестерина на 40–45 %, кальция на 2–15 %, натрия на 30–52 %, повышение уровня глюкозы в 3,5 раза, мочевины на 5–25 %, калия на 15–28 %, хлоридов на 20–25 %.

Таким образом, у более молодых кобыл в крови выше уровень белков (общий белок, альбумины), липидов (триглицериды, холестерин) и минеральных веществ (кальция, калия, натрия), но ниже уровень углеводов (глюкозы), мочевины и хлоридов. Это, по-видимому, связано с процессами интенсивного роста и ускоренными обменными процессами в молодом организме.

Для жеребцов уровень общего белка выше на 6 и 24 %, уровень альбуминов на 30 и 43 % в возрасте 5 и 6 лет соответственно, самые низкие значения 54 и 19 г/л получены для 2 летних животных. Уровень триглицеридов выше на 25 % у жеребцов 2 лет и старше 10 лет, уровень глюкозы выше на 56 %, а уровень мочевины на 20–50 % у жеребцов старше 3 лет, уровень кальция выше на 40–50 % у 2, 5 и 6 летних животных, уровень калия ниже на 30 % в возрасте 6 лет и выше на 40 % в возрасте старше 10 лет, уровень натрия на 30 % выше в возрасте 3 лет и ниже в возрасте 6 лет, уровень хлоридов ниже в возрасте 3 лет на 30 % (по сравнению с двухлетними жеребцами). У трехлетних жеребцов повышается уровень общего белка на 17 %, альбуминов на 8 %, холестерина на 5 %, натрия на 30 %, снижается уровень триглицеридов на 70 %, глюкозы на 16 %, мочевины на 45 %, кальция на 74 %, калия на 4 %, хлоридов на 40 %. У жеребцов 4 лет выше уровень общего белка на 20 %, альбуминов на 11 %, холестерина на 3 %, глюкозы на 76 %, мочевины на 65 %, хлоридов на 15 %, ниже уровень триглицеридов в крови на 7 %, кальция на 28 %, калия на 18 %, натрия на 27 %. Для животных 5 лет выше уровень общего белка на 25 %, альбуминов на 24 %, глюкозы в 1,7 раза, мочевины на 56 %, натрия на 21 %, ниже уровень триглицеридов на 11 %, калия на 8 %, хлоридов на 13 %. В возрасте 6 лет происходит повышение уровня общего белка на 15 %, альбуминов на 20 %, холестерина на 15 %, глюкозы на 80 %, мочевины на 14 %, кальция на 23 %, хлоридов на 18 %, снижение уровня триглицеридов на 8 %, калия на 30 %, натрия на 40 %. В возрастной группе старше 10 лет по сравнению с 2 летними жеребцами происходит повышение уровня общего белка на 30 %, альбуминов на 8 %, триглицеридов на 3 %, холестерина на 2 %, глюкозы на 75 %, мочевины на 26 %, калия на 48 %, хлоридов на 9 %, снижение уровня кальция на 15 %, натрия на 2 %.

Таким образом, у жеребцов, как и у кобыл, наблюдается повышение уровня глюкозы, мочевины и хлоридов в возрасте старше 3 лет и уровня триглицеридов у молодых животных и старше 10 лет. Но у жеребцов максимальный уровень белка в крови отмечается в возрасте 5 и 6 лет, а не у двухлетних животных. Также можно отметить повышение уровня кальция, снижение уровня

калия и натрия в этом возрасте. По-видимому, это связано с максимальной интенсивностью тренинга жеребцов в этом возрасте.

### **Изменение биохимических показателей крови коров в зависимости от их физиологического состояния**

У коров содержание общего белка, альбуминов и глобулинов в крови сильно отличается в зависимости от их физиологического состояния (Воронина и соавт., 2019). Например, в сыворотке крови глубоко стельных коров уровень общего белка выше почти на 15 % по сравнению с нетелями; альбумины,  $\alpha$ -глобулины,  $\beta$ -глобулины,  $\gamma$ -глобулины – крови на 8–10 % больше, чем для нетелей (Зайцев, 2016; Милаёва и соавт., 2010). Концентрация глюкозы в сыворотке крови этих коров на 5 % выше по сравнению с нетелями, а вот содержание мочевины в сыворотке крови этих коров выше в 1,5 раза по сравнению с нетелями (Зайцев, 2016; Милаёва и соавт., 2010). Отличаются биохимические показатели сыворотки крови коров и нетелей также по активности ферментов и ряду других показателей: кальций, фосфор, магний, железо, цинк (Зайцев, 2016; Милаёва и соавт., 2010). Сравнивая биохимические показатели, полученные разными авторами, можно отметить существенные различия в содержании органических и неорганических веществ. Так, по содержанию общего белка в сыворотке крови лошадей значения отличаются на 10–15 %, фосфора в сыворотке крови коров – в 3 раза, лошадей – в 1,5 раза и т.д. По данным разных авторов (Зайцев, 2016; Милаёва и соавт., 2010; Kaneko et al., 2008; Zaitsev, 2016; Zaitsev et al., 2020 и другие) содержание холестерина в сыворотке крови коров отличается в 2 раза, содержание натрия на – 20 %, общего билирубина – на 40 %, а отличия по всем другим показателям от 5 до 25 %.

Таким образом, изменение биохимического состава сыворотки крови происходит под воздействием многочисленных как внутренних, так и внешних факторов. Уровень отдельных веществ в сыворотке крови не может отражать все сложные изменения, происходящие в организме в процессе роста, болезни и других состояний, поэтому оценивать ИБС организма можно только с учетом взаимосвязи между отдельными биохимическими показателями и комплексно анализируя происходящие с ними изменения.

### **Корреляционные взаимодействия между данными ДПН и биохимического анализа**

Наряду с биохимическим анализом ведётся поиск методов, позволяющих уловить комплексные изменения, не затрачивая время на определение уровня отдельных

веществ в сыворотке крови (Krishnan et al., 2005). Метод межфазной тензиометрии (или ДПН) — это один из перспективных шагов в данном направлении (Kratochvil & Hrnčíř, 2001). Для выяснения зависимости ДПН крови от количественного и качественного состава её у лошадей в разные сроки постнатального онтогенеза и пола животных был проведён корреляционный анализ между показателями межфазной тензиометрии и данными биохимического анализа крови для разных групп животных (Зарудная и соавт., 2011; Милаёва и соавт., 2006; Царькова и соавт., 2017). На значения ДПН при коротких временах ( $\sigma_1$ ) наибольшее влияние оказывают мочевины, катионы (кальций, калий) и холестерол (прямые корреляционные связи); а также белки (альбумины, общий белок) и натрий (обратные корреляционные связи). При средних временах ( $\sigma_2$ ) наблюдаются прямые корреляционные связи с уровнем катионов (калия и натрия); обратные корреляционные связи — с уровнем липидов (триглицеридов, холестерина) и хлоридов. При большом времени ( $\sigma_3$ ) основное влияние на ДПН оказывают общий белок и альбумины (обратные корреляционные связи); при увеличении концентрации калия — обратные корреляционные связи. Значения  $\lambda_0$  имеют обратные корреляционные связи с концентрациями большинства исследованных компонентов сыворотки крови (кроме белков и натрия, повышение концентрации которых приводит к прямой корреляционной связи с значениями  $\lambda_1$ ). Если подводить общие итоги этого раздела для жеребцов и кобыл вместе, то имеющиеся корреляционные связи между ДПН и биохимическим составом крови очень сильно отличаются по силе и типу для большинства корреляционных зависимостей. Но есть некоторые общие закономерности: для жеребцов и для кобыл белки имеют обратные корреляционные связи с  $\sigma_1$ , мочевины — прямую с  $\sigma_1$ ,  $\lambda_0$ , липиды — обратную с величиной  $\sigma_2$ . Как общие корреляционные закономерности, так и детально описанные особенности для животных определенного возраста и пола имеют важное значение в физико-химической биологии и ветеринарно-зоотехнических науках.

Для науки и практики животноводства важным является изучение биохимических параметров сыворотки крови в различные сроки постнатального онтогенеза у крупного рогатого скота. Для телок в возрасте 6 мес. отмечается прямая корреляционная связь значений  $\sigma_1$  с уровнем белков, липидов, глюкозы, кальция, натрия и обратная — с уровнем мочевины, калия и хлоридов. Значения  $\sigma_2$  имеют прямые корреляционные связи с уровнем альбуминов, липидов, глюкозы и натрия; а также обратные — с уровнем общего белка, мочевины и хлоридов. Значения  $\sigma_3$  имеют прямые корреляционные связи с уровнем мочевины, калия или хлоридов; а также обратные — с уровнем альбуминов, липидов, глюкозы, кальция и натрия. Значения  $\lambda_0$  имеют прямые корреляционные связи со всеми биохимическими по-

казателями, кроме уровня мочевины, калия и хлоридов (с ними обратные корреляционные связи). Значения  $\lambda_1$  имеют прямые корреляционные связи с уровнем общего белка, липидов, глюкозы, кальция, натрия; а также обратные — с уровнем мочевины, калия и хлоридов.

Для животных в возрасте одного года наблюдаются прямые корреляционные связи для  $\sigma_1$ – $\sigma_2$  с уровнем альбуминов, катионов, хлоридов; а также обратные — с уровнем общего белка, холестерина, мочевины, глюкозы. Значения  $\sigma_3$  имеют прямые корреляционные связи с уровнем триглицеридов, глюкозы, калия, натрия; а также обратные — с уровнем альбуминов, холестерина, мочевины, хлоридов. Значения  $\lambda_0$  имеют прямые корреляционные связи с уровнем альбуминов, катионов, хлоридов; а также обратные — с уровнем общего белка, холестерина, мочевины, глюкозы. Значения  $\lambda_1$  имеют прямые корреляционные связи с уровнем белков, холестерина, мочевины, хлоридов; а также обратные — с уровнем триглицеридов, катионов.

Для телок в возрасте 1–2 лет между биохимическими и ДПН параметрами сыворотки крови в большей степени отмечаются средние корреляционные связи, причем число их меньше по сравнению с таковыми для более молодых животных. Значения  $\sigma_1$  имеют обратные корреляционные связи с уровнем общего белка, общего холестерина, триглицеридов, глюкозы и хлоридов; а также прямые — с уровнем калия, кальция и натрия. Значения  $\sigma_2$  имеют обратные корреляционные связи с уровнем общего белка, альбумина, холестерина, триглицеридов, глюкозы; а также прямые — с уровнем мочевины, калия, кальция и фосфора. Значения  $\sigma_3$  имеют обратные корреляционные связи с уровнем общего белка, холестерина, глюкозы и хлоридов; а также прямые — с уровнем мочевины и калия. Значения  $\lambda_0$  имеют обратные корреляционные связи только с уровнем калия; а также прямые — только с уровнем общего белка. Значения  $\lambda_1$  имеют обратные корреляционные связи только с уровнем калия; а также прямые — с уровнем общего белка, холестерина, триглицеридов и хлоридов.

Для нетелей значения  $\sigma_1$  имеют прямые корреляционные связи с уровнем натрия и неорганического фосфора; а также обратные — с уровнем общего белка, общего холестерина и хлоридов. Значения  $\sigma_3$  имеют обратные корреляционные связи с уровнем белка, липидов и хлоридов; а также прямые — с уровнем мочевины, кальция и фосфора. Значения  $\lambda_0$  имеют прямую корреляционную связь с уровнем общего белка, альбуминов, холестерина; а также обратные — с уровнем мочевины, общего кальция, фосфора и натрия. Значения  $\lambda_1$  имеют прямые корреляционные связи с уровнем альбуминов, триглицеридов, глюкозы и хлоридов в сыворотке крови нетелей; а также обратные — с уровнем общего кальция и неорганического фосфора.

У лактирующих коров значения  $\sigma_1$  имеют обратные корреляционные связи с уровнем альбуминов, липидов, глюкозы и хлоридов; а также прямые — с уровнем кальция, фосфора и калия. Значения параметров  $\sigma_2$  имеют обратные зависимости с содержанием в сыворотке крови лактирующих коров общего белка, альбуминов, липидов, глюкозы и хлоридов; а также прямые — с уровнем мочевины и кальция. Значения параметров  $\sigma_3$  имеют обратные зависимости с содержанием в сыворотке крови лактирующих коров общего белка, альбуминов, липидов и хлоридов; а также прямые — с уровнем мочевины, кальция и калия. На значения  $\lambda_0$  наибольшее влияние оказывают уровень мочевины, кальция, фосфора и калия (обратные корреляционные связи). Значения  $\lambda_1$  имеют прямые корреляционные связи с уровнем белка, липидов и хлоридов; а также обратные — с уровнем мочевины и общего кальция

По нашему мнению, влияние липидов на ДПН у коров в большей степени обусловлено содержанием холестерина, тогда как у кобыл — триглицеридов. В целом у обоих видов животных липиды имеют отрицательную корреляцию с большинством показателей ДПН. Среди катионов у кобыл наибольшее влияние на значения ДПН оказывает концентрация калия и натрия, а у коров — кальция. У коров и кобыл катионы имеют однотипные положительные корреляции с ДПН при средних и больших временах, а на значения углов наклона — влияют по-разному. Уровень мочевины у обоих видов животных имеет сильную положительную корреляцию с ДПН при коротких временах и с углом наклона  $\lambda_0$ . Уровень глюкозы у кобыл и коров имеет сильную отрицательную корреляцию со значениями ДПН и углами наклона, у коров корреляционная связь отмечается только при коротких временах. Изменение содержания хлоридов в крови

у коров и кобыл имеет прямую корреляционную связь со значениями ДПН при коротких временах и углами наклона тензиограмм. У коров отмечается также сильная обратная корреляционная связь этого показателя с  $\sigma_3$ .

По нашему мнению, для крупного рогатого скота (обоих полов) отмечается прямая корреляционная связь  $\sigma_1$  с уровнем мочевины, хлоридов, альбуминов; обратная — с уровнем кальция, холестерина, общего белка (только с  $\sigma_1$ ),  $\sigma_3$  с уровнем глюкозы, кальция, холестерина и обратная — с уровнем мочевины, хлоридов, альбуминов. Значения  $\lambda_0$  имеют прямую корреляционную связь с уровнем белков, мочевины, хлоридов, холестерина и обратную — с уровнем триглицеридов, глюкозы и катионов (калия, натрия).

### **Динамическое поверхностное натяжение сыворотки крови людей**

Уникальные работы по изучению ДПН крови и мочи для здоровых (Казаков и соавт., 1996) и больных (Kazakov et al., 2000; Потапов и соавт., 2021) людей разного пола и разных возрастных групп проведена в совместных работах сотрудников Донецкого государственного медицинского университета, МПИ коллоидов и поверхностей, Потсдамского и Берлинского университетов (Kazakov et al., 2000).

Ряд показателей ДПН представлены в Таблице 4.

У обследованных здоровых людей показатели ДПН крови при времени 0,01 с ( $\sigma_0$ ) обнаруживают прямую сильную корреляцию с уровнем в крови глобулинов, фибриногена, глюкозы, калия, натрия, кальция; (при

**Таблица 4**

Параметры ДПН сыворотки крови у здоровых людей\* в зависимости от возраста, по данным работы (Казаков, 2000)

Возраст (годы)	Показатели межфазной тензиометрии			
	$\sigma_0$ , мН/м	$\sigma_1$ , мН/м	$\sigma_3$ , мН/м	$\lambda$ , мН · м <sup>-1</sup> с <sup>1/2</sup>
До 1	74,2 ± 0,4	69,2 ± 0,5	60,1 ± 1,2	13,7 ± 1,6
1–5	74,1 ± 0,3	68,8 ± 0,4	58,9 ± 0,9	13,2 ± 1,2
6–10	73,5 ± 0,3	68,7 ± 0,4	59,7 ± 0,9	12,3 ± 1,2
11–15	74,3 ± 0,3	69,2 ± 0,7	61,2 ± 1,2	11,61 ± 1,04
16–20	66,9 ± 0,6	66,5 ± 0,5	58,8 ± 0,4	15,0 ± 0,9
21–30	70,3 ± 0,8	67,5 ± 0,6	59,2 ± 0,3	13,72 ± 1,09
31–40	70,8 ± 0,6	68,0 ± 0,6	61,1 ± 1,2	10,5 ± 0,7
41–50	71,1 ± 0,7	68,2 ± 0,7	61,2 ± 1,4	10,2 ± 0,8
51–60	71,54 ± 1,09	68,5 ± 0,9	61,4 ± 1,6	10,0 ± 0,9
Старше 60	71,9 ± 0,9	69,0 ± 0,8	61,7 ± 1,2	9,1 ± 0,8

\* Авторы работы (Казаков, 2000) не приводят число обследованных людей.

временах 1 с)  $\sigma_1$  с содержанием глюкозы и электролитов; (при 100 с)  $\sigma_3$  - с концентрацией белка, глобулинов, ЛПВП и общего кальция (Казак, 2000). ДПН сыворотки (при 0,01 с)  $\sigma_0$  обратно коррелирует с показателями глобулинов, при 1 с ( $\sigma_1$ ) - с уровнем глобулинов, хлора, триглицеридов, общего холестерина, ЛПНП и ЛПОНП, а при 100 с ( $\sigma_3$ ) - с содержанием триглицеридов, холестерина, фосфолипидов, ЛПНП, мочевины и хлора. Следовательно, глобулины, фибриноген оказывают влияние на ДПН при коротких временах, ЛПОНП в зоне средних времен; общий белок, фосфолипиды, ЛПВП и мочевины - при больших временах «существования» поверхности (ВСП). Примечательно, что уровень кальция влияет на показатели динамического поверхностного натяжения при всех ВСП (Казак, 2000).

Обнаружены небольшие, но достоверные различия в значениях ДПН крови и мочи у людей разного пола. ДПН ( $\sigma_3$ ) в области больших времен у женщин больше, а угол наклона тензиограмм меньше, чем у мужчин (Таблица 5).

Эти изменения связаны с разным содержанием некоторых белковых, липидных и углеводных компонентов плазмы крови у мужчин и женщин (Казак, 2000). Угол наклона тензиограммы для крови с возрастом постоянно уменьшается. Это, предположительно, связано со структурными изменениями, происходящими в крови в процессе развития организма

Необходимо отметить, что в сыворотке крови ионы калия, натрия, кальция, хлора выступают как поверхностно инактивные вещества. Возрастное снижение содержания калия у представителей старших возрастных групп оказывает влияние на увеличение ДПН крови в области 0,01 с ( $\sigma_0$ ) (Казак, 2000).

Несколько неожиданными оказались результаты исследования, касающиеся сывороточного альбумина, который, как известно, относится к достаточно мощным

природным ПАВ. Сколько-нибудь существенного влияния степени альбуминемии на параметры межфазных тензиограмм крови здоровых людей выявлено не было.

Содержание глюкозы в крови влияет на значения  $\sigma_0$  и  $\sigma_1$  для этой биологической жидкости (положительная корреляционная связь), а мочевины - на  $\sigma_3$  (отрицательная зависимость). Как известно, добавки *in vitro* углеводов понижают, а мочевины повышают поверхностное натяжение растворов как в области коротких, так и длинных времен «жизни» поверхности. Влияние указанных веществ на динамическую межфазную тензиометрию растворов протеинов не ограничивается изменением структуры растворителя. Присутствие мочевины приводят к денатурации альбумина в объеме и поверхностном слое, вследствие чего межфазная активность раствора существенно снижается.

Дисбаланс состава белков и жиров крови способен даже у здоровых людей вызывать дополнительное образование факторов гемокоагуляции, что, в свою очередь, может воздействовать на показатели межфазной тензиометрии. Так, свободный холестерин при сдвиге в липидном обмене встраивается в мембрану эритроцитов и изменяет соотношение «холестерин/фосфолипиды» с выходом из клеток в сыворотку крови поверхностно-активного фосфатидилхолина. Это существенно влияет на показатели ДПН крови людей.

Процессы, протекающие при взаимодействии различных продуктов метаболизма с протеинами, проявляются в изменениях молекулярной структуры белков, определяя тем самым появление у них новых физико-химических их свойств, изменяя вязкость и поверхностное натяжение крови.

Приведенный анализ результатов исследования ДПН крови людей разного возраста и пола представляет не только научно-теоретический интерес, но также имеет большое практическое значение для ранней диагно-

**Таблица 5**

Параметры ДПН сыворотки крови у здоровых людей\* в зависимости от пола, по данным работы (Казак, 2000)

Группы обследованных	Показатели межфазной тензиометрии			
	$\sigma_0$ , мН/м	$\sigma_1$ , мН/м	$\sigma_3$ , мН/м	$\lambda$ , мН · м <sup>-1</sup> с <sup>1/2</sup>
Дети	74,05±0,16	68,9±0,3	59,8±0,5	12,7±0,6
– мальчики	74,02±0,19	69,0±0,2	59,8±0,6	12,8±0,7
– девочки	74,0±0,3	68,8±0,7	59,72±1,06	12,6±0,9
Взрослые	70,1±0,3	67,7±0,3	60,1±0,3	12,6±0,4
– мужчины	69,3±0,4	67,2±0,2	59,46±0,12	15,2±0,5
– женщины	70,8±0,4	68,3±0,4	61,2±0,5	8,3±0,4

\* Авторы работы (Казак, 2000) не приводят число обследованных людей.

стики патологических процессов и контроля за проведением лечебных мероприятий. Параметры межфазной тензиометрии крови полезны при необходимости интегральной оценки белкового, липидного и электролитного обменов у практически здоровых людей, скажем, работающих в экстремальных условиях, у женщин во время беременности и т.д. (Казаков, 2000).

В ряде недавних работах (Потапов и соавт., 2021; Хомутов и соавт., 2022), были исследованы ДПН образцов крови двух групп пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) в сравнении с условно здоровыми добровольцами (К) того же возраста и пола. Авторами (Потапов и соавт., 2021; Хомутов и соавт., 2022) предложена математическая модель, из которой следует, что: характеристики ДПН сыворотки крови групп ИБС и К существенно отличаются; оценен вклад низкомолекулярных метаболитов в формирование поверхностного натяжения плазмы и сыворотки крови; велик вклад системы свертывания крови в ДПН крови в исследуемых группах; установлена связь между величиной концентрации низкомолекулярных метаболитов и значением ДПН плазмы и сыворотки при ИБС людей (Потапов и соавт., 2021; Хомутов и соавт., 2022).

## ЛИТЕРАТУРА

- Барсуков, Л. И. (1998). Липиды. *Соросовский образовательный журнал*, 10, 2–10.
- Воронина, О. А., Ильина, Л. А., & Зайцев, С. Ю. (2019). Ферментативная активность сыворотки крови коров на поздних периодах лактации и ее взаимосвязь с поверхностным натяжением крови. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*, (2), 28–33.
- Воронина, О. А., Сапего, Н. Ю., & Зайцев, С. Ю. (2018). Взаимосвязь активности ряда ферментов и поверхностного натяжения сыворотки крови лактирующих коров. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*, (6), 39–44.
- Зайцев, С. Ю. (2017). *Биологическая химия: от биологически активных веществ до органов и тканей животных*. Капитал Принт.
- Зайцев, С. Ю. (2016). *Тензиометрический и биохимический анализ крови животных: фундаментальные и прикладные аспекты*. Издательство Сельскохозяйственные технологии.
- Зайцев, С. Ю., Довженко, Н. А., Милаёва, И. В., Зарудная, Е. Н., & Царькова, М. С. (2015). Методические основы применения межфазной тензиометрии для исследования биологических жидкостей. *Проблемы биологии продуктивных животных*, (2), 97–105.
- Зайцев, С. Ю. (2010). *Супрамолекулярные наноразмерные системы на границе раздела фаз. Концепции и перспективы для бионанотехнологий*. Ленанд.
- Зайцев, С. Ю., Максимов, В. И., Милаева, И. В., & Миллер, Р. (2007). Исследование поверхностного натяжения модельных систем и крови животных методом межфазной тензиометрии. *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*, (2), 44–46.
- Зайцев, С. Ю. (2006). *Супрамолекулярные системы на границе раздела фаз как модели биомембран и наноматериалы*. Норд-компьютер.
- Зарудная, Е. В., Максимов, В. И., Зайцев, С. Ю., & Довженко, Н. А. (2010). Исследование поверхностного натяжения сыворотки крови животных с помощью модельных систем. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им И.Э. Баумана*, 203, 96–100.
- Зарудная, Е. В., Максимов, В. И., & Зайцев, С. Ю. (2011). Возможности метода межфазной тензиометрии для зоотехнии. *Зоотехния*, (6), 21–22.
- Казаков, В. Н., Миллер, Р., & Синяченко, О. В. (1997). Динамическая межфазная тензиометрия — новый метод изучения биологических жидкостей человека. *Вестник новых медицинских технологий*, 4(4), 100–103.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ДПН отражает количественные и качественные изменения состава крови у людей и животных определенного пола и возраста (чем уже интервал по возрасту в группах, тем выше значения для корреляционных связей между биохимическими показателями и ДПН крови). В целом, как для людей, так и для животных наблюдается большое количество сильных корреляционных связей, что дает возможность практического использования полученных фундаментальных результатов.

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Зайцев С. Ю.:** концептуализация, разработка методологии исследования, научное руководство исследованием, проведение исследования, написание-рецензирование и редактирование рукописи.

**Зайцев И. С.:** валидация данных, написание — подготовка черновика рукописи, курирование данных, работа с программным обеспечением.

- Казаков, В. Н., Синяченко, О. В., & Файнерман, В. Б. (1996). Динамическое поверхностное натяжение биологических жидкостей здоровых людей. *Архив клинической экспериментальной медицины*, 5(1), 3–6.
- Казаков, В. Н., Синяченко, О. В., & Игнатенко, Г. А. (2003). *Межфазная тензиометрия биологических жидкостей в терапии*. Донеччина.
- Казаков, В. Н., Синяченко, О. В., & Постовая, М. В. (1998). Межфазная тензиометрия биологических жидкостей: Вопросы теории, методы и перспективы использования в медицине. *Архив клинической экспериментальной медицины*, 7(1), 5–12.
- Казаков, В. Н. (2000). *Межфазная тензиометрия и реометрия биологических жидкостей в терапевтической практике*. Мед. Университет.
- Казаков, В. Н., Возианов, А. Ф., & Синяченко, О. В. (1999). Факторы, влияющие на динамические межфазные тензиограммы крови и мочи у здоровых людей. *Архив клинической экспериментальной медицины*, 8(8), 19–24.
- Крылов, А. Б. (2008) *Поверхностное натяжение и связанные с ним явления*. БГМУ.
- Лысов, В. Ф., & Максимов, В. И. (2004). *Основы физиологии и этологии животных*. КолосС.
- Максимов, В. И., Зайцев, С. Ю., Милаёва, И. В., Козлов, С. А., & Миллер, Р. (2006). Особенности некоторых физиологических показателей сыворотки крови лошадей в связи с полом и возрастом. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины*, 185, 208–213.
- Милаёва, И. В., Максимов, В. И., Зайцев, С. Ю., & Довженко, Н. А. (2010). Особенности физиолого-биохимических показателей сыворотки крови крупного рогатого скота в связи с возрастом. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины*, 201, 263–266.
- Милаёва, И. В., Зайцев, С. Ю., Максимов, В. И., Козлов, С. А., & Миллер, Р. (2006). Исследование поверхностного натяжения сыворотки крови лошадей. *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*, (3), 26–27.
- Потапов, В. В., Моисеева, И. Я., Зенин, О. К., Макиевский, А., & Зайцев, С. Ю. (2021). Связь приобретенной клапанной патологии сердца людей с изменением величин физико-химических показателей сыворотки крови. *Известия высших учебных заведений. поволжский регион*, 60(4), 152–160.
- Русанов, А. И., & Прохоров, В. А. (1994) Межфазная тензиометрия. Химия.
- Фадеев, А. С., Ямпольская, Г. П., Левачёв, С. М., & Зайцев, С. Ю. (2008). Денатурация монослоёв коллагена на границе раздела вода-воздух: моделирование процесса. *Биологические мембраны*, 25(2), 142–154.
- Хазипов, Н. З., Аскарлова, А. Н., & Тюрникова, Р. П. (2010) *Биохимия животных с основами физколлоидной химии*. КолосС.
- Хомутов, Е. В., Дмитриев, Л. С., Потапов, В. В., Зенин, О. К., & Зайцев, С. Ю. (2022). Адсорбционные характеристики низкомолекулярных компонентов крови больных с сердечной недостаточностью. *Известия Саратовского университета. Новая серия (Серия Физика)*, 22, 244–253.
- Царькова, М. С., Милаева, И. В., & Зайцев, С. Ю. (2017). Коллоидно-химическая регрессионная модель в анализе связи динамического поверхностного натяжения с содержанием общего белка и альбуминов в крови. *Вестник Московского университета. Серия 2: Химия*, 58(5), 267–271.
- Butler, C. M., & Foty, R. A. (2011). Measurement of aggregate cohesion by tissue surface tensiometry. *Journal of Visualized Experiments*, 50, 27–39. <https://doi.org/10.3791/2739>
- Campbell, M. K., & Farrell, Sh. O. (2010). *Biochemistry*. (7 th ed.). Nelson Education Ltd.
- Chen, P., Kwok, D. Y., & Prokop, R. M. (1998). Axisymmetric drop shape analysis (ADSA) and its application. In D. Mobius & R. Miller (Eds.) *Drops and Bubbles in Interfacial Science. Studies in Interface Science*. V. 6, (pp. 61–138). Elsevier.
- Chen, P., Prokop, R. M., & Susnar, S. S. (1998). Interfacial tensions of protein solutions using axisymmetric drop shape analysis. In D. Mobius & R. Miller (Eds.) *Proteins at Liquid Interfaces. Studies in Interface Science*. V. 7 (pp. 303–339). Elsevier.
- Clark, D. C., Husband, F., & Wilde, P. J. (1995). Evidence of extraneous surfactant adsorption altering adsorbed layer properties of  $\beta$ -lactoglobulin. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 91(13), 1991–1996.
- Dan, A., Gochev, G., & Miller, R. (2015). Tensiometry and dilational rheology of mixed  $\beta$ -lactoglobulin/ionic surfactant adsorption layers at water/air and water/hexane interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 449, 383–391. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.01.035>
- De Brito, A. K., Nordi, C. S., & Caseli, L. (2015). Algal polysaccharides as matrices for the immobilization of urease in lipid ultrathin films studied with tensiometry and vibrational spectroscopy: Physical-chemical properties and implications in the enzyme activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 135, 639–645. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.08.033>
- Derde, M., Nau, F., & Lechevalier, V. (2015). Native lysozyme and dry-heated lysozyme interactions with membrane lipid monolayers: lateral reorganization of LPS monolayer, model of the Escherichia coli outer membrane. *Biochim-*

- ca et Biophysica Acta. Part A*, 1848(1), 174–183. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.10.026> Get rights and content
- Dixit, N., Zeng, D. L., & Kalonia, D. S. (2012). Application of maximum bubble pressure surface tensiometer to study protein-surfactant interactions. *International Journal of Pharmaceutics*, 439(1–2), 317–323. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.09.013>
- Douillard, R., Daoud, M., & Lefebvre, J. (1994). State Equation of  $\beta$ -casein at the air/water interface. *Journal of Colloid and Interface Science*, 163, 277–288.
- Fainerman, V. B., Miller, R., & Makievski, A. V. (2004). Accurate analysis of the bubble formation process in maximum bubble pressure tensiometry. *Review of Scientific Instruments*, 75, 213–221.
- Fainerman, V. B., Mys, V. D., Makievski, A. V., & Miller, R. (2006). Application of the maximum bubble pressure technique for dynamic surface tension studies of surfactant solutions using the Sugden two-capillary method. *Journal of colloid and interface science*, 304(1), 222–225. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.08.023>
- Fainerman, S. A., Zholob, M., Leser, K., & Miller, R. (2004). Competitive adsorption from mixed nonionic surfactant/protein solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 274, 496–501. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2003.12.057>
- Fainerman, V. B., Mys, V. D., Makievski, A. V., & Miller, R. (2004). Correction for the aerodynamic resistance and viscosity in maximum bubble pressure tensiometry. *Langmuir*, 20, 1721–1723.
- Fainerman, V. B., Kazakov, V. N., Lylyk, S. V., & Makievski, A. V. (2004). Dynamic surface tension measurements of surfactant solutions using the maximum bubble pressure method – limits of applicability. *Colloids & Surfaces A*, 250, 97–102. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.01.041>
- Fainerman, V. B., Mys, V. D., Makievski, A. V., & Miller, R. (2006). Dynamic surface tension of micellar solutions in the millisecond and submillisecond time range. *Journal of Colloid and Interface Science*, 302, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.06.029>
- Fainerman, V. B., & Miller, R. (1995). Dynamic surface tension of surfactant mixture at the water-air interface. *Colloids and Surfaces A*, 97, 65–82.
- Fainerman, V. B., & Miller, R. (2004). Maximum bubble pressure tensiometry--an analysis of experimental constraints. *Advances in colloid and interface science*, 108–109, 287–301. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.010>
- Fathi-Azarbayjani, A., & Jouyban, A. (2015). Surface tension in human pathophysiology and its application as a medical diagnostic tool. *BioImpacts*, 5(1), 29–44. <https://doi.org/10.15171/bi.2015.06>
- Ferri, J. K., Lin, S. Y., & Stebe, K. J. (2001). Curvature effects in the analysis of pendant bubble data: Comparison of numerical solutions, asymptotic arguments, and data. *Journal of Colloid and Interface Science*, 241, 154–168. <https://doi.org/10.1006/jcis.2001.7737>
- Garrett, R. H., & Grisham, Ch. M. (2005). *Biochemistry*. Thomson Learning.
- Generalova, A. N., Marchenko, S. B., Gorokhova, I. V., Miller, R., Gurevich, I. V., Tsarkova, M. S., Maksimov, V. I., & Zaitsev, S. Yu. (2007). Advantages of interfacial tensiometry for studying the interactions of biologically active compounds. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 298, 88–93.
- Grigoriev, D. O., Fainerman, V. B., & Makievski, A. V. (1996).  $\beta$ -casein bilayer adsorption at the solution/air interface: Experimental evidences and theoretical description. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 114, 245–254.
- Hansen, F. K., & Myrvold, R. (1995). The kinetics of albumin adsorption to the air/water interface measured by automatic axisymmetric drop shape analysis. *Journal of Colloid and Interface Science*, 176, 408–417.
- Hrncir, E., & Rosina, J. (1997). Surface tension of blood. *Physiological Research*, 46(4), 319–321.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (2008). *Clinical biochemistry of domestic animals*. Elsevier.
- Kazakov, V. N., Vozianov, A. F., Sinyachenko, O. V., Trukhin, D. V., Kovalchuk, V. I., & Pison, U. (2000). Studies on the application of dynamic surface tensiometry of serum and cerebrospinal liquid for diagnostics and monitoring of treatment in patients who have rheumatic, neurological or oncological diseases. *Advances in Colloid and Interface Science*, 86(1–2), 1–38.
- Kazakov, V. N., Sinyachenko, O. V., Fainerman, V.B., Pison, U., & Miller, R. (2000). Dynamic surface tension of biological liquids in medicine. In D. Möbius & R. Miller, (Eds.), *Studies in Interface Science v.8* (pp.34–56), Elsevier.
- Kratochvil, A., & Hrncir, E. (2001). Correlation between the blood surface tension and the activity of some enzymes. *Physiological Research*, 50(4), 433–437.
- Krishnan, A., Wilson, A., Sturgeon, J., Siedlecki, C. A., & Vogler, E. A. (2005). Liquid-vapor interfacial tension of blood plasma, serum and purified protein constituents thereof. *Biomaterials*, 26(17), 3445–3453.
- Makievski, A. V., Miller, R., & Fainerman, V. B. (1999). Adsorption of Proteins at the Liquid/Air and Liquid/Oil Interfaces as Studied by the Pendant Drop Method. *Food Emulsions and Foams*, 1, 269–284.
- Makievski, A. V., Miller, R., & Fainerman, V. B. (1997). Determination of equilibrium surface tension value by extrapolation via long time approximation. *Colloids and Surfaces A*, 122, 269–273.

- Mikaelyan, M. S. (2014). Influence of EMI EHF on plasma surface tension of rat blood. *Proceedings of the Yerevan State University, Chemistry and Biology*, 48(3), 24–28. <https://doi.org/10.46991/PYSU:B/2014.48.3.024>
- Miller, R., Grigoriev, D. O., & Kragel, J. (2005). Experimental studies on the desorption of adsorbed proteins from liquid interfaces. *Food Hydrocolloids*, 19, 479–483.
- Miller, R., Policova, Z., & Sedev, R. (1993). Relaxation behavior of human albumin adsorbed at the solution/air interface. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 76, 179–185.
- Miller, R., Aksenenko, V. B., Fainerman, V. B., & Pison, U. (2001). Kinetics of adsorption of globular proteins at liquid/fluid interfaces. *Colloids Surfaces A*, 183, 381–390.
- Möbius, D., & Miller, R. (2001). Novel Methods to Study Interfacial Layers. In D. Möbius & R. Miller, (Eds.), *Studies in Interface Science v.11* (pp.234–268). Elsevier.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2005). *Lehninger principles of biochemistry*. 4 ed. W.H. Freeman and Company.
- Nikolov, A. D., & Wasan, D. T. (2004). A novel method to study particle–air/liquid surface interactions. *Colloids and Surfaces A*, 250, 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.05.027>
- Niño, M. R. R., & Patino, J. M. R. (1998). Surface tension of bovine serum albumin and tween-20 at the air–aqueous interface. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 75(10), 1241–1248.
- Noskov, B. A., & Loglio, G. (1998). Dynamic surface elasticity of surfactant solutions. *Colloids and Surfaces A*, 143, 167–183. [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(98\)00263-5](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(98)00263-5)
- Noskov, B. A. (2002). Kinetics of adsorption from micellar solutions. *Advances in colloid and interface science*, 95(2–3), 237–293. [https://doi.org/10.1016/s0001-8686\(00\)00085-3](https://doi.org/10.1016/s0001-8686(00)00085-3)
- Paulsson, M., & Dejmek, P. (1992). Surface film pressure of  $\beta$ -Lactoglobulin,  $\alpha$ -Lactalbumin and BSA at the air/water interface studied by Wilhelmy plate and drop volume. *Journal of Colloid and Interface Science*, 150, 394–403. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(92\)90209-5](https://doi.org/10.1016/0021-9797(92)90209-5)
- Pitois O., Fritz C., & Vignes-Adler, M. (2005). Liquid drainage through aqueous foam: study of the flow on the bubble scale. *Journal of Colloid and Interface Science*, 282, 458–465. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.08.187>
- Robertson, B., Van Golde, L. M. G., & Batenburg, J. J. (1992). *Pulmonary surfactant: From molecular biology to clinical practice*. Elsevier.
- Robertson, B., & Thusch, H. W. (1995). *Surfactant therapy for lung disease*. Marcel Dekker Inc.
- Rosina, J., Kvasnák, E., Suta, D., Kolárová, H., Málek, J., & Krajič, L. (2007). Temperature dependence of blood surface tension. *Physiological research*, 56, 93–98. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931306>
- Sandev, N., Zapryanova, D., Stoycheva, I., Rusenova, N., & Mircheva, T. (2013). Investigation of some haematological and blood biochemical parameters in cattle spontaneously infected with bovine leukosis virus. *Macedonian Veterinary Review*, 36(2), 107–110.
- Serrien, G., Geeraerts, G., & Ghosh, L. (1992). Dynamic surface properties of adsorbed protein solutions: BSA, casein and buttermilk. *Colloids and Surfaces*, 68, 219–233. [https://doi.org/10.1016/0166-6622\(92\)80208-J](https://doi.org/10.1016/0166-6622(92)80208-J)
- Zaitsev, S. Yu. (2015). Application of the correlations between the interfacial tensiometry and biochemical parameters of the animal blood for comprehensive diagnostics. *FEBS journal*, 282, 192.
- Zaitsev, S. Yu., Maximov, V. I., Milaeva, I. V., Zarudnaya, E. N., & Miller R. (2011). Dynamic Tensiometry as Express-Method for Horse Blood. *International Journal of Medical and Biological Frontiers*, 17(4–5), 377–384.
- Zaitsev, S. Yu., Milaeva, I. V., Zarudnaya, E. N., & Maximov, V. I. (2011). Investigation of dynamic surface tension of biological liquids for animal blood diagnostics. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 383, 109–113.
- Zaitsev, S. Yu. (2016). Dynamic surface tension measurements as general approach to the analysis of animal blood plasma and serum. *Advances in Colloid and Interface Science*, 235, 201–213. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.06.007>
- Zaitsev, S. Y., Bogolyubova, N. V., Zhang, X., & Brenig, B. (2020). Biochemical parameters, dynamic tensiometry and circulating nucleic acids for cattle blood analysis: a review. *PeerJ*, 8, e8997. <https://doi.org/10.7717/peerj.8997>
- Zaitsev, S. Y., & Solovyeva, D. O. (2015). Supramolecular nanostructures based on bacterial reaction center proteins and quantum dots. *Advances in Colloid and Interface Science*, 218, 34–47. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.01.006>
- Zaitsev, S. Yu., Solovyeva, D. O., & Zaitsev, I. S. (2015) Multifunctional membranes based on photosensitive crown-ether derivatives with advanced properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 222, 755–764. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.09.007>

## REFERENCES

- Barsukov, L. I. (1998). Lipids. *Sorosovskij Obrazovatel'nyj Zhurnal* [Soros Educational Journal], 10, 2–10.
- Voronina, O. A., Ilyina, L. A., & Zaitsev, S. Yu. (2019). Enzymatic activity of blood serum of cows in late periods of lactation and its relationship with the surface tension of the blood. *Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya* [Veterinary Science, Animal Science and Biotechnology], (2), 28–33.
- Voronina, O. A., Sapego, N. Yu., & Zaitsev, S. Yu. (2018). Relationship between the activity of a number of enzymes and the surface tension of the blood serum of lactating cows. *Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya* [Veterinary Science, Animal Science and Biotechnology], (6), 39–44.
- Zaitsev, S. Yu. (2017). *Biologicheskaya himiya: ot biologicheskii aktivnykh veshchestv do organov i tkanej zhivotnykh* [Biological chemistry: from biologically active substances to animal organs and tissues]. Kapital Print
- Zaitsev, S. Yu. (2016). *Tenziometricheskij i biohimicheskij analiz krovi zhivotnykh: fundamental'nye i prikladnye aspekty* [Tensiometric and biochemical analysis of animal blood: fundamental and applied aspects]. Izdatel'stvo Sel'skohozyajstvennyye tekhnologii.
- Zaitsev, S. Yu., Dovzhenko, N. A., Milayeva, I. V., Zarudnaya, E. N., & Tsarkova, M. S. (2015). Methodological bases for the use of interfacial tensiometry for the study of biological fluids. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh* [Problems of Biology of Productive Animals], (2), 97–105.
- Zaitsev, S. Yu. (2010). *Supramolekulyarnye nanorazmernyye sistemy na granice razdela faz. Konceptii i perspektivy dlya bionanotekhnologii* [Supramolecular nanoscale systems at the interface. Concepts and perspectives for bionanotechnology]. Lenand.
- Zaitsev, S. Yu., Maksimov, V. I., Milaeva, I. V., & Miller, R. (2007). Investigation of the surface tension of model systems and blood of animals by the method of interfacial tensiometry. *Rossiiskij veterinarnyj zhurnal. Sel'skohozyajstvennyye zhivotnye* [Russian veterinary journal. Farm Animals], (2), 44–46.
- Zaitsev, S. Yu. (2006). *Supramolekulyarnyye sistemy na granice razdela faz kak modeli biomembran i nanomaterialy* [Supramolecular systems at the phase boundary as models of biomembranes and nanomaterials]. Nord computer.
- Zarudnaya, E. V., Maksimov, V. I., Zaitsev, S. Yu., & Dovzhenko, N. A. (2010). Study of the surface tension of animal blood serum using model systems. *Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy mediciny im I.E. Bauman* [Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after I.E. Bauman], 203, 96–100.
- Zarudnaya, E. V., Maksimov, V. I., & Zaitsev, S. Yu. (2011). Possibilities of the method of interfacial tensiometry for zootechnics. *Zootekhnika* [Zootechnics], (6), 21–22.
- Kazakov, V. N., Miller, R., & Sinyachenko, O. V. (1997). Dynamic interfacial tensiometry is a new method for studying human biological fluids. *Vestnik novykh medicinskih tekhnologij* [Bulletin of new medical technologies], 4(4), 100–103.
- Kazakov, V. N., Sinyachenko, O. V., & Fainerman, V. B. (1996). Dynamic surface tension of biological fluids in healthy people. *Arhiv klinicheskoy eksperimental'noj mediciny* [Archives of Clinical Experimental Medicine], 5(1), 3–6.
- Kazakov, V. N., Sinyachenko, O. V., & Ignatenko, G. A. (2003). *Mezhfaznaya tenziometriya biologicheskikh zhidkostej v terapii* [Interfacial tensiometry of biological fluids in therapy]. Donechchina.
- Kazakov, V. N., Sinyachenko, O. V., & Postovaya, M. V. (1998). Interfacial tensiometry of biological fluids: Issues of theory, methods and prospects for use in medicine. *Arhiv klinicheskoy eksperimental'noj mediciny* [Archives of Clinical Experimental Medicine], 7(1), 5–12.
- Kazakov, V. N. (2000). *Mezhfaznaya tenziometriya i reometriya biologicheskikh zhidkostej v terapevticheskoy praktike* [Interfacial tensiometry and rheometry of biological fluids in therapeutic practice]. Med. Universitet.
- Kazakov, V. N., Vozianov, A. F., & Sinyachenko, O. V. (1999). Factors affecting dynamic interfacial blood and urine tensiograms in healthy individuals. *Arhiv klinicheskoy eksperimental'noj mediciny* [Archives of Clinical Experimental Medicine], 8(8) 19–24.
- Krylov, A. B. (2008). *Poverhnostnoe natyazhenie i svyazannyye s nim yavleniya* [Surface tension and related phenomena]. BGMU.
- Lysov, V. F., & Maksimov, V. I. (2004). *Osnovy fiziologii i etologii zhivotnykh* [Fundamentals of physiology and ethology of animals]. Colossus.
- Maksimov, V. I., Zaitsev, S. Yu., Milayeva, I. V., Kozlov, S. A., & Miller, R. (2006). Features of some physiological parameters of blood serum of horses in connection with sex and age. *Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy mediciny* [Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine], 185, 208–213.
- Milayeva, I. V., Maksimov, V. I., Zaitsev, S. Yu., & Dovzhenko, N. A. (2010). Features of physiological and biochemical parameters of blood serum of cattle in connection with age. *Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy mediciny* [Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine], 201, 263–266.

- Milayeva, I. V., Zaitsev, S. Yu., Maksimov, V. I., Kozlov, S. A., & Miller, R. (2006). The study of the surface tension of the blood serum of horses. *Rossijskij veterinarnyj zhurnal. Sel'skokozyajstvennyye zhivotnye* [Russian veterinary journal. Farm Animals], (3), 26–27.
- Potapov, V. V., Moiseeva, I. Ya., Zenin, O. K., Makievsky, A., & Zaitsev, S. Yu. (2021). Connection of acquired valvular pathology of the heart of people with changes in the values of physicochemical parameters of blood serum. *Izvestiya vysshih uchebnykh zavedenij. Povolzhskij region* [News of higher educational institutions. Volga region], 60(4), 152–160.
- Rusanov, A. I., & Prokhorov, V. A. (1994). Mezhfaznaya tenziometriya [Interfacial tensiometry]. Himiya.
- Fadeev, A. S., Yampolskaya, G. P., Levachev, S. M., & Zaitsev, S. Yu. (2008). Denaturation of collagen monolayers at the water-air interface: simulation of the process. *Biologicheskie membrany* [Biological membranes], 25(2), 142–154.
- Khazipov, N. Z., Askarova, A. N., & Tyurikova, R. P. (2010). *Biohimiya zhivotnykh s osnovami fizkolloidnoj himii* [Animal biochemistry with fundamentals of physical colloid chemistry]. Colossus.
- Khomutov, E. V., Dmitriev, L. S., Potapov, V. V., Zenin, O. K., & Zaitsev, S. Yu. (2022). Adsorption characteristics of low molecular weight blood components in patients with heart failure. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya (Seriya Fizika)* [News of the Saratov University. New Series (Physics Series)], 22, 244–253.
- Tsarkova, M. S., Milaeva, I. V., & Zaitsev, S. Yu. (2017). Colloid-chemical regression model in the analysis of the relationship between dynamic surface tension and the content of total protein and albumin in the blood. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 2: Himiya* [Bulletin of Moscow University. Series 2: Chemistry], 58(5), 267–271.
- Butler, C. M., & Foty, R. A. (2011). Measurement of aggregate cohesion by tissue surface tensiometry. *Journal of Visualized Experiments*, 50, 27–39. <https://doi.org/10.3791/2739>
- Campbell, M. K., & Farrell, Sh. O. (2010). *Biochemistry*. (7th ed.). Nelson Education Ltd.
- Chen, P., Kwok, D. Y., & Prokop, R. M. (1998). Axisymmetric drop shape analysis (ADSA) and its application. In D. Mobius & R. Miller (Eds.) *Drops and Bubbles in Interfacial Science. Studies in Interface Science*. V. 6, (pp. 61–138). Elsevier.
- Chen, P., Prokop, R. M., & Susnar, S. S. (1998). Interfacial tensions of protein solutions using axisymmetric drop shape analysis. In D. Mobius & R. Miller (Eds.) *Proteins at Liquid Interfaces. Studies in Interface Science*. V. 7 (pp. 303–339). Elsevier.
- Clark, D. C., Husband, F., & Wilde, P. J. (1995). Evidence of extraneous surfactant adsorption altering adsorbed layer properties of  $\beta$ -lactoglobulin. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 91(13), 1991–1996.
- Dan, A., Gochev, G., & Miller, R. (2015). Tensiometry and dilational rheology of mixed  $\beta$ -lactoglobulin/ionic surfactant adsorption layers at water/air and water/hexane interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 449, 383–391. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.01.035>
- De Brito, A. K., Nordi, C. S., & Caseli, L. (2015). Algal polysaccharides as matrices for the immobilization of urease in lipid ultrathin films studied with tensiometry and vibrational spectroscopy: Physical-chemical properties and implications in the enzyme activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 135, 639–645. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.08.033>
- Derde, M., Nau, F., & Lechevalier, V. (2015). Native lysozyme and dry-heated lysozyme interactions with membrane lipid monolayers: lateral reorganization of LPS monolayer, model of the Escherichia coli outer membrane. *Biochimica et Biophysica Acta. Part A*, 1848(1), 174–183. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.10.026> Get rights and content
- Dixit, N., Zeng, D. L., & Kalonia, D. S. (2012). Application of maximum bubble pressure surface tensiometer to study protein-surfactant interactions. *International Journal of Pharmaceutics*, 439(1–2), 317–323. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.09.013>
- Douillard, R., Daoud, M., & Lefebvre, J. (1994). State Equation of  $\beta$ -casein at the air/water interface. *Journal of Colloid and Interface Science*, 163, 277–288.
- Fainerman, V. B., Miller, R., & Makievski, A. V. (2004). Accurate analysis of the bubble formation process in maximum bubble pressure tensiometry. *Review of Scientific Instruments*, 75, 213–221.
- Fainerman, V. B., Mys, V. D., Makievski, A. V., & Miller, R. (2006). Application of the maximum bubble pressure technique for dynamic surface tension studies of surfactant solutions using the Sugden two-capillary method. *Journal of colloid and interface science*, 304(1), 222–225. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.08.023>
- Fainerman, S. A., Zholob, M., Leser, K., & Miller, R. (2004). Competitive adsorption from mixed nonionic surfactant/protein solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 274, 496–501. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2003.12.057>
- Fainerman, V. B., Mys, V. D., Makievski, A. V., & Miller, R. (2004). Correction for the aerodynamic resistance and viscosity in maximum bubble pressure tensiometry. *Langmuir*, 20, 1721–1723.
- Fainerman, V. B., Kazakov, V. N., Lylyk, S. V., & Makievski, A. V. (2004). Dynamic surface tension measurements of surfactant solutions using the maximum bubble pressure method – limits of applicability. *Colloids & Surfaces A*, 250, 97–102. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.01.041>

- Fainerman, V. B., Mys, V. D., Makievski, A. V., & Miller, R. (2006). Dynamic surface tension of micellar solutions in the millisecond and submillisecond time range. *Journal of Colloid and Interface Science*, 302, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.06.029>
- Fainerman, V. B., & Miller, R. (1995). Dynamic surface tension of surfactant mixture at the water-air interface. *Colloids and Surfaces A*, 97, 65–82.
- Fainerman, V. B., & Miller, R. (2004). Maximum bubble pressure tensiometry--an analysis of experimental constraints. *Advances in colloid and interface science*, 108–109, 287–301. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.010>
- Fathi-Azarbayjani, A., & Jouyban, A. (2015). Surface tension in human pathophysiology and its application as a medical diagnostic tool. *BioImpacts*, 5(1), 29–44. <https://doi.org/10.15171/bi.2015.06>
- Ferri, J. K., Lin, S. Y., & Stebe, K. J. (2001). Curvature effects in the analysis of pendant bubble data: Comparison of numerical solutions, asymptotic arguments, and data. *Journal of Colloid and Interface Science*, 241, 154–168. <https://doi.org/10.1006/jcis.2001.7737>
- Garrett, R. H., & Grisham, Ch. M. (2005). *Biochemistry*. Thomson Learning.
- Generalova, A. N., Marchenko, S. B., Gorokhova, I. V., Miller, R., Gurevich, I. V., Tsarkova, M. S., Maksimov, V. I., & Zaitsev, S. Yu. (2007). Advantages of interfacial tensiometry for studying the interactions of biologically active compounds. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 298, 88–93.
- Grigoriev, D. O., Fainerman, V. B., & Makievski, A. V. (1996).  $\beta$ -casein bilayer adsorption at the solution/air interface: Experimental evidences and theoretical description. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 114, 245–254.
- Hansen, F. K., & Myrvold, R. (1995). The kinetics of albumin adsorption to the air/water interface measured by automatic axisymmetric drop shape analysis. *Journal of Colloid and Interface Science*, 176, 408–417.
- Hrncir, E., & Rosina, J. (1997). Surface tension of blood. *Physiological Research*, 46(4), 319–321.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (2008). *Clinical biochemistry of domestic animals*. Elsevier.
- Kazakov, V. N., Vozianov, A. F., Sinyachenko, O. V., Trukhin, D. V., Kovalchuk, V. I., & Pison, U. (2000). Studies on the application of dynamic surface tensiometry of serum and cerebrospinal liquid for diagnostics and monitoring of treatment in patients who have rheumatic, neurological or oncological diseases. *Advances in Colloid and Interface Science*, 86(1–2), 1–38.
- Kazakov, V. N., Sinyachenko, O. V., Fainerman, V.B., Pison, U., & Miller, R. (2000). Dynamic surface tension of biological liquids in medicine. In D. Möbius & R. Miller, (Eds.), *Studies in Interface Science v.8* (pp.34–56), Elsevier.
- Kratochvil, A., & Hrncir, E. (2001). Correlation between the blood surface tension and the activity of some enzymes. *Physiological Research*, 50(4), 433–437.
- Krishnan, A., Wilson, A., Sturgeon, J., Siedlecki, C. A., & Vogler, E. A. (2005). Liquid-vapor interfacial tension of blood plasma, serum and purified protein constituents thereof. *Biomaterials*, 26(17), 3445–3453.
- Makievski, A. V., Miller, R., & Fainerman, V. B. (1999). Adsorption of Proteins at the Liquid/Air and Liquid/Oil Interfaces as Studied by the Pendant Drop Method. *Food Emulsions and Foams*, 1, 269–284.
- Makievski, A. V., Miller, R., & Fainerman, V. B. (1997). Determination of equilibrium surface tension value by extrapolation via long time approximation. *Colloids and Surfaces A*, 122, 269–273.
- Mikaelyan, M. S. (2014). Influence of EMI EHF on plasma surface tension of rat blood. *Proceedings of the Yerevan State University, Chemistry and Biology*, 48(3), 24–28. <https://doi.org/10.46991/PYSU:B/2014.48.3.024>
- Miller, R., Grigoriev, D. O., & Kragel, J. (2005). Experimental studies on the desorption of adsorbed proteins from liquid interfaces. *Food Hydrocolloids*, 19, 479–483.
- Miller, R., Policova, Z., & Sedev, R. (1993). Relaxation behavior of human albumin adsorbed at the solution/air interface. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 76, 179–185.
- Miller, R., Aksenenko, V. B., Fainerman, V. B., & Pison, U. (2001). Kinetics of adsorption of globular proteins at liquid/fluid interfaces. *Colloids Surfaces A*, 183, 381–390.
- Möbius, D., & Miller, R. (2001). Novel Methods to Study Interfacial Layers. In D. Möbius & R. Miller, (Eds.), *Studies in Interface Science v.11* (pp.234–268). Elsevier.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2005). *Lehninger principles of biochemistry*. 4 ed. W.H. Freeman and Company.
- Nikolov, A. D., & Wasan, D. T. (2004). A novel method to study particle-air/liquid surface interactions. *Colloids and Surfaces A*, 250, 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.05.027>
- Niño, M. R. R., & Patino, J. M. R. (1998). Surface tension of bovine serum albumin and tween-20 at the air-aqueous interface. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 75(10), 1241–1248.
- Noskov, B. A., & Loglio, G. (1998). Dynamic surface elasticity of surfactant solutions. *Colloids and Surfaces A*, 143, 167–183. [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(98\)00263-5](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(98)00263-5)
- Noskov, B. A. (2002). Kinetics of adsorption from micellar solutions. *Advances in colloid and interface science*, 95(2–3), 237–293. [https://doi.org/10.1016/s0001-8686\(00\)00085-3](https://doi.org/10.1016/s0001-8686(00)00085-3)

- Paulsson, M., & Dejmek, P. (1992). Surface film pressure of  $\beta$ -Lactoglobulin,  $\alpha$ -Lactalbumin and BSA at the air/water interface studied by Wilhelmy plate and drop volume. *Journal of Colloid and Interface Science*, 150, 394–403. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(92\)90209-5](https://doi.org/10.1016/0021-9797(92)90209-5)
- Pitois O., Fritz C., & Vignes-Adler, M. (2005). Liquid drainage through aqueous foam: study of the flow on the bubble scale. *Journal of Colloid and Interface Science*, 282, 458–465. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.08.187>
- Robertson, B., Van Golde, L. M. G., & Batenburg, J. J. (1992). *Pulmonary surfactant: From molecular biology to clinical practice*. Elsevier.
- Robertson, B., & Tlusch, H. W. (1995). *Surfactant therapy for lung disease*. Marcel Dekker Inc.
- Rosina, J., Kvasnák, E., Suta, D., Kolárová, H., Málek, J., & Krajci, L. (2007). Temperature dependence of blood surface tension. *Physiological research*, 56, 93–98. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931306>
- Sandev, N., Zapryanova, D., Stoycheva, I., Rusenova, N., & Mircheva, T. (2013). Investigation of some haematological and blood biochemical parameters in cattle spontaneously infected with bovine leukosis virus. *Macedonian Veterinary Review*, 36(2), 107–110.
- Serrien, G., Geeraerts, G., & Ghosh, L. (1992). Dynamic surface properties of adsorbed protein solutions: BSA, casein and buttermilk. *Colloids and Surfaces*, 68, 219–233. [https://doi.org/10.1016/0166-6622\(92\)80208-J](https://doi.org/10.1016/0166-6622(92)80208-J)
- Zaitsev, S. Yu. (2015). Application of the correlations between the interfacial tensiometry and biochemical parameters of the animal blood for comprehensive diagnostics. *FEBS journal*, 282, 192.
- Zaitsev, S. Yu., Maximov, V. I., Milaeva, I. V., Zarudnaya, E. N., & Miller R. (2011). Dynamic Tensiometry as Express-Method for Horse Blood. *International Journal of Medical and Biological Frontiers*, 17(4–5), 377–384.
- Zaitsev, S. Yu., Milaeva, I. V., Zarudnaya, E. N., & Maximov, V. I. (2011). Investigation of dynamic surface tension of biological liquids for animal blood diagnostics. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 383, 109–113.
- Zaitsev, S. Yu. (2016). Dynamic surface tension measurements as general approach to the analysis of animal blood plasma and serum. *Advances in Colloid and Interface Science*, 235, 201–213. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.06.007>
- Zaitsev, S. Y., Bogolyubova, N. V., Zhang, X., & Brenig, B. (2020). Biochemical parameters, dynamic tensiometry and circulating nucleic acids for cattle blood analysis: a review. *PeerJ*, 8, e8997. <https://doi.org/10.7717/peerj.8997>
- Zaitsev, S. Y., & Solovyeva, D. O. (2015). Supramolecular nanostructures based on bacterial reaction center proteins and quantum dots. *Advances in Colloid and Interface Science*, 218, 34–47. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.01.006>
- Zaitsev, S. Yu., Solovyeva, D. O., & Zaitsev, I. S. (2015) Multifunctional membranes based on photosensitive crown-ether derivatives with advanced properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 222, 755–764. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.09.007>

# Development of Cinnarizine Liposome Technology

Yulia A. Polkovnikova

Voronezh State University, Voronezh,  
Russia

**Корреспонденция:**

**Yulia A. Polkovnikova,**  
Voronezh State University, 1,  
Universitetskaya Square,  
Voronezh, 394018, Russia  
E-mail: juli-polk@mail.ru

**Declaration of competing interest:**  
none declared

**Received:** 05.11.2022

**Accepted:** 10.12.2022

**Published:** 30.12.2022

**Copyright:** © 2022 The Author

## ABSTRACT

**Introduction.** Liposomal preparations have a number of advantages: they protect the cells of the body from the toxic effects of drugs; prolong the action of the drug introduced into the body; protect medicinal substances from degradation; contribute to the manifestation of targeted specificity due to selective penetration from the blood into tissues; change the pharmacokinetics of drugs, increasing their pharmacological efficacy; allow you to create a water-soluble form of a number of medicinal substances, thereby increasing their bioavailability.

In this work, studies were carried out to develop a methodology for determining the degree of inclusion in liposomes from soy lecithin of cinnarizine, which has found wide application as a corrector of cerebral circulation disorders.

**Purpose.** The purpose of the study is to determine the amount of adsorption of cinnarizine with liposomes from soy lecithin.

**Materials and Methods.** Cinnarizine liposomes from soy lecithin were prepared by the hydration/rehydration method. To study the characteristics of the degree of incorporation of cinnarizine into liposomes, the method of equilibrium dialysis was used. The choice of this method is due to the fact that the quantitative analysis of the equilibrium concentration of cinnarizine in the dispersion medium, which is necessary to determine the amount of adsorption, is hampered by the presence of a dispersed phase, liposomes. A semipermeable membrane with a pore diameter sufficient for the penetration of cinnarizine molecules, but impermeable to liposomes, makes it possible to obtain a cinnarizine solution with a concentration close enough to the concentration in the dispersion medium of liposomes. The solution thus obtained can be subjected to quantitative analysis using spectrophotometry.

**Results.** A graph of the dependence of the value of adsorption of cinnarizine on liposomes on the equilibrium concentration was plotted. It was found that the value of adsorption of cinnarizine during the treatment of liposomes with ultrasound is less for all the studied concentrations. At an equilibrium concentration of cinnarizine of more than 0.0003 mol/l, the proportion of the prepart associated with liposomes stabilizes. Without sonication at the level of  $24.83 \pm 1.15\%$ , with sonication at the level of  $18.4 \pm 1.20\%$ .

**Conclusion.** It has been established that ultrasonic treatment of liposomes is expedient when cinnarizine is added to a dry lipid film, since is a factor that increases bioavailability.

## KEYWORDS

liposomes, soy lecithin, cinnarizine, dialysis, inclusion degree, ultrasound



**To cite:** Polkovnikova, Yu. A. (2022). Development of cinnarizine liposome technology. *Health, Food & Biotechnology*, 4(4), 35–40. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s153>

<https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s153>

# Разработка технологии липосомной лекарственной формы циннаризина

Ю. А. Полковникова

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

## Корреспонденция:

Полковникова Юлия Александровна,  
Воронежский государственный университет,  
394018, г. Воронеж, Университетская площадь, 1  
E-mail: juli-polk@mail.ru

## Конфликт интересов:

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов

Поступила: 05.11.2022

Принята: 10.12.2022

Опубликована: 30.12.2022

Copyright: © 2022 Автор

## АННОТАЦИЯ

**Введение.** Липосомальные препараты обладают рядом преимуществ: защищают клетки организма от токсического действия лекарственных средств; пролонгируют действие введенного в организм лекарственного средства; защищают лекарственные вещества от деградации; способствуют проявлению нацеленной специфичности за счет селективного проникновения из крови в ткани; изменяют фармакокинетику лекарственных препаратов, повышая их фармакологическую эффективность; позволяют создать водорастворимую форму ряда лекарственных субстанций, увеличивая тем самым их биодоступность. В данной работе проведены исследования по разработке методики определения степени включения в липосомы из соевого лецитина циннаризина, нашедшего широкое применение как корректора нарушений мозгового кровообращения.

**Цель.** Цель исследования определить величину адсорбции циннаризина с липосомами из соевого лецитина.

**Материалы и методы.** Липосомы циннаризина из соевого лецитина получали методом гидратации/регидратации. Для изучения характеристик степени включения циннаризина в липосомы был использован метод равновесного диализа. Выбор данного метода обусловлен тем, что количественный анализ равновесной концентрации циннаризина в дисперсионной среде, необходимый для определения величины адсорбции, затруднен присутствием дисперсной фазы – липосом. Полупроницаемая мембрана, с диаметром пор, достаточным для проникновения молекул циннаризина, но не пропускающая липосомы, позволяет получить раствор циннаризина с концентрацией, достаточно близкой к концентрации в дисперсионной среде липосом. Получаемый таким образом раствор может быть подвергнут количественному анализу с использованием спектрофотометрии.

**Результаты.** Построен график зависимости величины адсорбции циннаризина на липосомах от равновесной концентрации. Установлено, что величина адсорбции циннаризина при обработке липосом ультразвуком меньше для всех исследуемых концентраций. При равновесной концентрации циннаризина более 0,0003 моль/л происходит стабилизация доли препарата связанного с липосомами. Без обработки ультразвуком на уровне  $24,83 \pm 1,15$  %, с обработкой ультразвуком на уровне  $18,4 \pm 1,20$  %.

**Выводы.** Установлено, что обработка липосом ультразвуком является целесообразной при добавлении циннаризина к сухой липидной плёнке, т.к. является фактором, повышающим биодоступность

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

липосомы, соевый лецитин, циннаризин, диализ, степень включения, ультразвук



**Для цитирования:** Полковникова, Ю. А. (2022). Разработка технологии липосомной лекарственной формы циннаризина. *Health, Food & Biotechnology*, 4(4), 35–40. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s153>

## INTRODUCTION

Vascular diseases of the brain continue to be a thorny medical-and-social problem in contemporary society (Bertram & Tanzi, 2005; Polkovnikova & Slivkin, 2015). Pharmacological correction of the cerebral blood flow is an actual problem of modern medicine since in the basis of a lot of cerebral diseases there are factors of vascular genesis while the diseases themselves are accompanied by a loss of working ability, disability and mortality (Haress, 2015).

Various groups of medicinal drugs are applied in therapy of cerebrovascular diseases including blockage of calcium channels. One of the most applicable and economically available among them is a medicinal preparation – cinnarizine (DiSabella, 2014). Mechanism of action of this drug is exhibited in the blocking of calcium channels; in addition, under the intake of this drug antihistaminic effect is observed, moreover, cinnarizine exhibited anti-dopaminergic, anti-serotonergic and anti-cholinergic activity. Multiple studies of the medicinal preparation confirmed its efficacy for such diseases as cerebral atherosclerosis, without a coarse focal symptomatology and ischemic stroke (Sethi et al., 2018; Maghsoodi et al., 2019). It is also applied after hemorrhagic stroke and craniocerebral injury, for treating of discirculatory encephalopathy, dizziness, tinnitus, migraine, senile dementia, depression and irritability, rapid mental fatigability, impairment and loss of memory, thinking disorder, impossibility of attention focusing, in the treatment and for prevention of disorders in peripheral circulation, in cases of trophic and varicose ulcers, during supporting therapy in case of symptoms of labyrinthine disorders, including dizziness, tinnitus, nystagmus, nausea and vomiting (Erdem & Türkoğlu, 2010).

Liposomes are spherical vesicle structures composed of a uni- or multilamellar lipid bilayer surrounding internal aqueous compartments and a relatively impermeable outer lipophilic phospholipid bilayer (Szoka & Papahadjopoulos, 1980; Neuwelt et al., 2008; Abbott et al., 2006; Gregoriadis, 2008). Liposomes have gained considerable attention as drug delivery carriers because they are biocompatible, nontoxic, can deliver both hydrophilic and lipophilic drug molecules, protect their cargo from degradation by plasma enzymes, and transport their load across biological membranes and the blood brain barrier (Elbayoumi, & Torchilin, 2010; Lopalco et al., 2018; Yalçın & Türkoğlu, 2010; Xiaoli et al., 2017; Przewratil et al., 2009).

The purpose of the study is to develop a technology for obtaining liposomes of cinnarizine, and determine the degree of inclusion of cinnarizine in them.

## MATERIALS AND METHODS

### Preparation of liposome specimens from soya-bean lecithin

For obtaining liposomes from soya-bean lecithin method of hydration/rehydration was employed (Immordino et al., 2006). Soya-bean lecithin (Sigma) was dissolved in ethanol (0,1 g of soya-bean lecithin per 300 ml of ethanol (96%) at 38 °C in a water bath under stirring) and filtered through the glass filter with pore size of 16 µm. Ethanol was then evaporated in the rotor vaporizer at the temperature of 38 °C, pressure of -0,08 MPa and rotary speed of 100 rpm up to formation of semitransparent lipid film on the walls of a flask. Next, 10 ml of 0,1 M solution of hydrochloric acid or a solution of cinnarizine in 0,1 M solution of hydrochloric acid were added and agitated for 30 minutes. After that solution was subjected to ultrasound irradiation for 15 minutes.

### Determination of the mass fraction of liposomes colloid solution

Watch glass was dried in the desiccator at the temperature of 60 °C and weighed it with the use of analytical balance Radweg 220/C/2 with an accuracy up to 4-th decimal digit after the point, in grams. Then a colloid solution of liposomes was placed on the watch glass and weighed it again. Then the watch glass with a solution of liposomes was placed into the desiccator at the temperature of 80 °C and dried its contents up to invariable mass. Mass fraction of colloid solution of the liposomes was determined by the formula (1):

$$\omega_{\%} = \frac{m_{\text{dry}} - m_{\text{empty}}}{m_{\text{liquid}} - m_{\text{empty}}} \cdot 100 \%, \quad (1)$$

где  $m_{\text{empty}}$  – is mass of the watch glass, g;  
 $m_{\text{liquid}}$  – mass of the watch glass with colloid solution, g;  
 $m_{\text{dry}}$  – mass of the watch glass with a dry residue of colloid solution, g.

### Preparation of cinnarizine solution

Solution A. Precise sample of cinnarizine (0,0506 g) was dissolved in 20 ml of aqueous solution of hydrochloric acid 0,1 M in the volumetric flask of 100 ml in capacity and reduced with the same solvent up to the label.

Solution B. 1,0 ml of solution A was placed into the volumetric flask of 100 ml in capacity, reduced the volume of solution with 0,1 M solution of hydrochloric acid up to the label and then agitated.

Solution C. 5 ml of solution A was placed into the volumetric flask of 50 ml in capacity, reduced the volume of solution

with 0,1 M solution of hydrochloric acid up to the label and then agitated.

### Construction of a calibration graph and determination of the molar absorption coefficient for the quantitative determination of the content of cinnarizine by the spectrophotometric method

To study the binding of cinnarizine to liposomes from soy lecithin, the quantitative determination of cinnarizine in a 0.1 M aqueous solution of hydrochloric acid was performed spectrophotometrically.

### Determination of the degree of cinnarizine involvement into liposomes from soya-beans lecithin

Colloid solutions of liposomes with different concentrations of cinnarizine were placed into the vials in the amount of 0,6 ml using a dispenser of Termo Scientific DPOP-1–100-1000. Then dialysis test tubes GeBAflex Mini 250  $\mu$ l (Scienova, Germany) with a diameter of pores in membrane of 6–8 kDa were placed inside the vials. 0,18 ml of 0,1 M solution of hydrochloric acid were placed into the dialysis test tubes with the use of dispenser.

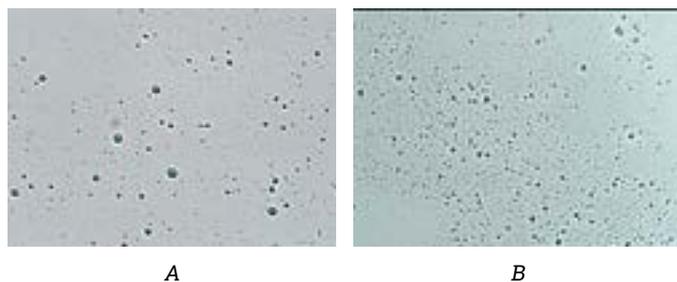
Dialyzers were placed into the thermostat at the temperature of 40 °C for 24 hours. After that, solutions in the amount of volume of 0,1 ml from the dialysis test tubes were mixed with 2,5 ml of aqueous solution of hydrochloric acid in 0,1 M concentration. Next, optical density of the obtained solutions were measured at the wavelength of 252 nm.

## RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows photomicrographs of liposomes before and after sonication.

#### Figure 1

Micrographs of liposomes in an aqueous solution of hydrochloric acid 0.1 M (A – before ultrasound treatment, B – after ultrasound treatment)



Mass fraction of liposomes was determined 6 times with the following determination of arithmetic mean value and standard deviation for the measured value (Table 1).

Table 1

Mass fraction of liposomes in colloidal solution

Nº	Mass fraction, %
1	0,2989
2	0,2490
3	0,3836
4	0,3300
5	0,2724
6	0,3014
Mean value	0,3059 $\pm$ 0,0470

### Construction of a calibration graph and determination of the molar absorption coefficient for the quantitative determination of the content of cinnarizine by the spectrophotometric method

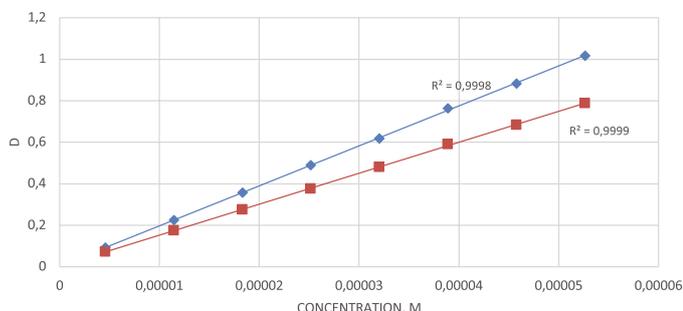
A preliminary measurement of the ultraviolet spectrum of a solution of cinnarizine B in a 0.1 M aqueous solution of hydrochloric acid was carried out.

The choice of the maximum optical density used for the quantitative determination of cinnarizine was made based on the possible effect of free lecithin in the dispersion medium of liposomes capable of penetrating through a semipermeable membrane during equilibrium dialysis (Polkovnikova, 2021). For this, a test dialysis was performed, in which 0.6 ml of a liposome solution was placed in a dialysis tube, and 0.18 ml of a 0.1 M aqueous solution of hydrochloric acid was placed in a dialyzer. Dialysis was carried out for 24 hours at a temperature of 40 °C. After that, the ultraviolet absorption spectrum of the solution in the dialyzer was measured. For a quantitative analysis of the content of cinnarizine, the absorption maximum at a wavelength of 252 nm was used, because for a given wavelength, less light absorption of free lecithin penetrating the dialysis membrane is observed.

In order to determine the linearity of the applied method of photometric analysis of the quantitative content of cinnarizine in a 0.1 M aqueous solution of hydrochloric acid, the optical densities of a series of solutions of cinnarizine of various concentrations were measured and a calibration graph was constructed in the range of concentrations and optical densities required for the study at wavelengths of 226 nm and 252 nm (Figure 2).

**Figure 2**

Calibration plot for the quantitative determination of cinnarizine in a 0.1 M aqueous solution of hydrochloric acid by spectrophotometry at 226 nm and 252 nm



The linear approximation coefficients  $R^2 = 0.9998$  at a wavelength of 252 nm and  $R^2 = 0.9999$  at a wavelength of 226 nm correspond to acceptable linearity in the optical density range 0–1. For the quantitative determination of cinnarizine, the molar absorption coefficient was determined at a wavelength of 252 nm, since in this region of the absorption spectrum of cinnarizine, a lower optical density of free lecithin, which penetrates through the dialysis membrane, is observed. For this, the least squares method was used to determine the equation of the linear dependence of optical density on concentration:

$$D = 19261,15C + 0,0046679. \quad (2)$$

The free term 0.0046679 in this equation can be neglected because it is comparable to the optical density measurement error. Thus, from the equation:

$$D = 19261,15 C \quad (3)$$

**Table 2**

Values of concentration in dialysates and the value of binding of cinnarizine to liposomes in an experiment with the inclusion of cinnarizine of various concentrations in liposomes

№	Concentration of cinnarizine without liposomes, taking into account dilution in the dialyzer, mole/l	Without ultrasound treatment		With ultrasound treatment	
		Concentration of cinnarizine in dialysate, mole/l	Degree of cinnarizine binding with liposomes, mole/kg	Concentration of cinnarizine in dialysate, mole/l	Degree of cinnarizine binding with liposomes, mole/kg
0	0,0010106	0,0003723	0,2593	0,0003898	0,2522
1	0,0009430	0,0003074	0,2583	0,0003722	0,2319
2	0,0008587	0,0003356	0,2125	0,0003225	0,2179
3	0,0007191	0,0002644	0,1847	0,0002941	0,1727
4	0,0006385	0,0002796	0,1458	0,0002512	0,1574
5	0,0005389	0,0001855	0,1436	0,0001647	0,1521
6	0,0004217	0,0001678	0,1032	0,0001457	0,1122
7	0,0002099	0,0000642	0,0592	0,0001004	0,0445
8	0,0001113	0,0000328	0,0319	0,0000672	0,0179

determined the molar absorption coefficient =  $19261.15/l = 19261.15/0.998 = 19299.75 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  (where  $l$  is the thickness of the cuvette, cm).

### Determination of the degree of cinnarizine involvement into liposomes from soya-beans lecithin

The equilibrium concentrations of cinnarizine, determined using the molar absorption coefficient and the value of drug binding to liposomes, are shown in Table 2.

Using the data obtained, a graph of the dependence of the adsorption value of cinnarizine on liposomes on the equilibrium concentration was plotted. It was found that the value of adsorption of cinnarizine during the treatment of liposomes with ultrasound is less for all the studied concentrations.

The degree of incorporation of cinnarizine into liposomes stabilizes with increasing concentration of the drug over 0,00015 mol/l and is  $62,18 \pm 4,08 \%$  without sonication of liposomes and  $60,83 \pm 1,23 \%$  with sonication of liposomes.

For obtaining liposomes from soya-bean lecithin method of hydration/rehydration was employed. The molar absorption coefficient =  $19299,75 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  is determined.

It was found that cinnarizine effectively binds to liposomes from soy lecithin in an acidic medium (the degree of binding is more than 60 %). The degree of incorporation of cinnarizine into liposomes from soy lecithin ( $62,18 \pm 4,08\%$ ) is comparable to the degree of incorporation of cinnarizine into liposomes with the addition of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (70%) (Jia et al., 2007).

## REFERENCES

- Abbott, N. J., Rönnbäck, L., & Hansson, E. (2006). Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(1), 41–53, 2006.
- Bertram, L., & Tanzi, R. E. (2005). The genetic epidemiology of neurodegenerative disease. *Journal of Clinical Investigation*, 115(6), 1449–1457. <https://doi.org/10.1172/JCI24761>
- DiSabella, M. T. (2014). Cinnarizine: a promising agent for migraine prevention you may never get the chance to use. *Pediatric Neurology*, 51(4), 475. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2014.07.002>
- Elbayoumi, T. A., & Torchilin, V. P. (2010). Current trends in liposome research. *Methods in Molecular Biology*, 605, 1–27. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-360-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-360-2_1)
- Erdem, S., & Türkoğlu, M. (2010). Glycyl-L-Histidyl-L-Lysine-Cu(2+) loaded liposome formulations. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 14(2), 91–97. <https://doi.org/10.12991/201014455>
- Gregoriadis, G. (2008). Liposome research in drug delivery: the early days. *Journal of Drug Targeting*, 16(7–8), 520–524, 2008. <https://doi.org/10.1038/nrn1824>
- Haess, N. G. (2015). Cinnarizine: Comprehensive profile. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, 40, 1–41. <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2015.01.001>
- Immordino, M. L., Dosio, F., & Cattel, L. (2006). Stealth liposomes: Review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential. *International Journal of Nanomedicine*, 1, 297–315.
- Jia, Z.-R., Sun, Y.-H., Qian, Yi-Xin, & Shang, H.-W. (2007). Preparation and characterization of liposomes entrapping cinnarizine-cyclodextrin complex. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 42(18), 1399+1403–1404.
- Lopalco, A., Cutrignelli, A., Denora, N., Lopodota, A., Franco, M., & Laquintana, V. (2018). Transferrin functionalized liposomes loading dopamine HCl: Development and permeability studies across an in vitro model of human blood–brain barrier. *Nanomater*, 8(3), 178. <https://doi.org/10.3390/nano8030178>
- Maghsoodi, M., Nokhodchi, A., Oskuei, M. A., & Heidari, S. (2019). Formulation of cinnarizine for stabilization of its physiologically generated supersaturation. *AAPS PharmSciTech*, 20(3), 139.
- Neuwelt, E., Abbott, N. J., Abrey, L., Banks, W. A., Blakley, B., Davis, T., & Engelhardt, B. (2008). Strategies to advance translational research into brain barriers. *The Lancet Neurology*, 7(1), 84–96. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70326-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70326-5)
- Polkovnikova, Y. A., & Slivkin, A. I. (2015). The study of the influence of coatings on the afobazole release kinetics from microcapsules. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*, 7(6), 16–18.
- Polkovnikova, Yu. A. (2021). Degree of cinnarizine involvement into liposomes of soya-bean lecithin. *AIP Conference Proceeding*, 2388, 030035. <https://doi.org/10.1063/5.0068477>
- Przewratil, P., Sitkiewicz, A., Wyka, K., & Andrzejewska, E. (2009). Neuropilin-2 and vascular endothelial growth factor receptor-3 are up-regulated in human vascular malformations. *Pediatric Dermatology*, 26(4), 399–404. <https://doi.org/10.1007/s10456-012-9305-x>
- Sethi, S., Mangla, B., Kamboj, S., & Rana, V. (2018). A QbD approach for the fabrication of immediate and prolong buoyant cinnarizine tablet using polyacrylamide-g-corn fibre gum. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 350–361. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.178>
- Szoka, F., & Papahadjopoulos, D. (1980). Comparative properties and methods of preparation of lipid vesicles (liposomes). *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*, 9, 467–508. <https://doi.org/10.1146/annurev.bb.09.060180.002343>
- Xiaoli, L., Xiaoyong, R., Jianmin, L., Weijun, M., Zhenghui, W., & Zhuangqun, Y. (2017). Delivery of sodium morrhuate to hemangioma endothelial cells using immunoliposomes conjugated with anti-VEGFR2/KDR antibody. *International Journal of Nanomedicine*, 2017(12), 6963–6972. <https://doi.org/10.2147/IJN.S144056>
- Yalçın, A. S., & Türkoğlu, M. (2010). Preparation of liposomes containing whey proteins. *Marmara Medical Journal*, 23(1), 22–29.

<https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s142>

УДК: 644.644

# Исследование процесса сбраживания жидкой ржаной заварки и определение технологических параметров для дискретного режима производства сортов заварного хлеба

А. В. Акулич, Т. Д. Самуйленко

Белорусский государственный университет пищевых и химических технологий, Могилев, Республика Беларусь

**Корреспонденция:**

Самуйленко Татьяна Дмитриевна, Белорусский государственный университет пищевых и химических технологий  
212027, Республика Беларусь, г. Могилев, проспект Шмидта, д. 3.  
E-mail: TataSam@tut.by

**Конфликт интересов:**

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов

**Поступила:** 25.09.2022**Принята:** 28.12.2022**Опубликована:** 30.12.2022**Copyright:** © 2022 Авторы

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках задания государственной программы научных исследований «Качество и эффективность агропромышленного производства», подпрограмма «Продовольственная безопасность»: 3.68 «Оптимизация технологического цикла сброженной заварки, полученной на основе осахаренной и заквашенной заварки, путем моделирования жизнедеятельности популяций симбиотически развивающихся в них микроорганизмов в дискретном режиме производства хлеба» (номер государственной регистрации 20191859).

**АННОТАЦИЯ**

**Введение.** В условиях постоянной нестабильности объемов производства сортов заварного хлеба реализация традиционной технологии сброженной заварки требует новых подходов, основанных на моделировании процесса сбраживания жидкой ржаной заварки с учетом особенностей технологического процесса ее приготовления. На функционирующих хлебопекарных предприятиях Республики Беларусь используются индивидуально разработанные схемы приготовления сброженной заварки с учетом поступивших заявок торговых организаций на ассортимент заварных сортов хлеба на следующие сутки. Однако, отсутствуют сведения о влиянии комплекса технологических параметров на биотехнологические свойства сброженной заварки в различных производственных условиях.

**Цель.** Целью работы является исследование влияния технологических параметров процесса сбраживания жидкой ржаной заварки на ее биотехнологические свойства; установление зависимости общего количества культивируемых микроорганизмов, их активности, кислотности и подъемной силы сброженной заварки от содержания полуфабриката предыдущего приготовления, продолжительности и температуры сбраживания; определение оптимальных диапазонов технологических параметров, адаптированных для дискретного режима производства сортов заварного хлеба.

**Материалы и методы.** Исследовали сброженную заварку, полученную в условиях заварочного отделения хлебопекарного предприятия. Температура сбраживания составляет от 25 °С до 35 °С, продолжительность процесса – от 60 мин до 480 мин. Массовая доля влаги в образцах сброженной заварки составляет 74–76 %. Сброженная заварка исследована по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям.

**Результаты.** Получены зависимости, позволяющие прогнозировать на стадии сбраживания показатели сброженной заварки на основе осахаренной и термофильной заквашенной заварки в дискретном режиме производства заварных сортов хлеба и научно обосновано регулирование технологических параметров приготовления данного полуфабриката. Разработаны рекомендации по расширению диапазонов технологических параметров приготовления жидкой ржаной заварки на стадии сбраживания в дискретном режиме производства сортов заварного хлеба.

**Выводы.** Полученные результаты позволят разработать автоматизированный количественный учет сброженной заварки, оперативно распределить полуфабрикат с необходимыми показателями по производственным емкостям, исключить влияние субъективных факторов на производственный цикл приготовления сброженной заварки.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА**

хлебопекарная отрасль; сорта заварного хлеба; дискретный режим; сброженная заварка; технологические параметры; биотехнологические свойства; оптимизация.

**Для цитирования:** Акулич А. В., & Самуйленко, Т. Д. (2022). Исследование процесса сбраживания жидкой ржаной заварки и определение технологических параметров для дискретного режима производства сортов заварного хлеба. *Health, Food & Biotechnology*, 4(4), 41–55. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s142>.



<https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s142>

# Investigation of the Fermentation Process of Liquid Rye Sourdough and Determination of Technological Parameters for the Discrete Mode of Production of National Types of Bread

Alexander V. Akulich, Tatyana D. Samuylenko

Belarusian State University of Food and Chemical Technologies, Mogilev, Republic of Belarus

**Correspondence:**

**Tatyana D. Samuylenko,**  
Belarusian State University of Food and Chemical Technologies  
3, Schmidt's Ave., Mogilev,  
212027, Republic of Belarus.  
E-mail: TataSam@tut.by

**Declaration of competing interest:**

none declared.

**Received:** 25.09.2022

**Accepted:** 28.12.2022

**Published:** 30.12.2022

**Copyright:** © 2022 The Authors

**Funding.** The research was done within the framework of the project of the scientific research state program "Quality and Efficiency of Agro-industrial Production", subprogram "Food Security": 3.68 "Optimization of the technological cycle of fermented brew obtained on the basis of saccharified and fermented brew by modeling the vital activity of symbiotically developing populations of microorganisms in a discrete mode of bread production" (state registration number 20191859).

## ABSTRACT

**Introduction.** The implementation of the traditional technology of liquid rye sourdough requires new approaches in the conditions of instability of the production of national types of bread. They should be based on modeling the fermentation process of liquid rye sourdough, taking into account the peculiarities of the technological process of its preparation. Information about some of the features and methods of preparing liquid rye sourdough is found in literary sources. The known methods do not take into account the features of the discrete mode. Individual schemes of preparation of liquid rye sourdough are used at bakeries of the Republic of Belarus. These schemes are subjective and change daily. There is no information about the influence of the complex of technological parameters on the biotechnological properties of liquid rye sourdough in various production conditions.

**Purpose.** The aim of the investigation is to study the influence of technological parameters of the fermentation process of liquid rye sourdough on its biotechnological properties; to establish the dependence of the total number of cultivated microorganisms, their activity, acidity and lifting force of liquid rye sourdough on the content of the semi-finished product of previous preparation, duration and temperature of fermentation; to determine the optimal ranges of technological parameters adapted for the discrete mode of production of national types of bread.

**Materials and Methods.** The objects of research are liquid rye sourdough obtained at a bakery enterprise. The fermentation temperature ranges from 25 °C to 35 °C, the duration of the process is from 60 minutes to 480 minutes. The mass fraction of moisture in the samples of liquid rye sourdough is 74–76 %. Liquid rye sourdough was studied according to organoleptic, physico-chemical and microbiological parameters.

**Results.** The influence of technological parameters on these indicators of liquid rye sourdough is shown in the article. Dependences have been obtained that make it possible to predict at the stage of fermentation the indicators of fermented brew based on saccharified and thermophilic sourdough brew in a discrete mode for the production of custard bread varieties and to scientifically control the technological parameters of the preparation of this semi-finished product. Recommendations for expanding the ranges of technological parameters for the preparation of liquid rye sourdough at the fermentation stage in the discrete mode of production of national types of bread have been developed.

**Conclusion.** The results of the research will allow us to develop an automated quantitative accounting of liquid rye sourdough, promptly distribute the semi-finished product with the necessary indicators across production capacities, eliminate the influence of subjective factors on the production cycle of the preparation of liquid rye sourdough.

## KEYWORDS

bakery industry; national types of bread; discrete mode; liquid rye sourdough; technological parameters; biotechnological properties; optimization.



**To cite:** Akulich A. V., & Samuylenko, T. D. (2022). Investigation of the process of fermentation of liquid rye brew and determination of technological parameters for the discrete mode of production of custard bread varieties. *Health, Food & Biotechnology*, 4(4), 41–55. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s142>

## ВВЕДЕНИЕ

На хлебопекарных предприятиях Республики Беларусь для производства сортов заварного хлеба используют жидкие ржаные заварки, преимущественно сброженную заварку на основе осахаренной и термофильной заквашенной заварки. Традиционно приготовление данного полуфабриката осуществляется в несколько стадий в непрерывном цикле при определенных технологических параметрах, что обеспечивает сохранение стабильного качественного и количественного состава культивируемых микроорганизмов, их активности, биотехнологических свойств самой сброженной заварки и, как следствие, потребительских свойств сортов заварного хлеба<sup>1</sup> (Кузнецова, 2003).

В условиях постоянной нестабильности объемов производства сортов заварного хлеба как по количеству, так и по ассортиментному перечню реализация традиционной технологии сброженной заварки требует новых подходов, основанных на моделировании сбраживания жидкой ржаной заварки с учетом особенностей технологического процесса ее приготовления.

Стоит отметить, что в литературных источниках встречаются сведения о некоторых особенностях приготовления сброженной заварки. Эти особенности преимущественно связаны с отличием технологических параметров от их традиционных диапазонов. В постоянно изменяющихся условиях работы хлебопекарных предприятий существуют рекомендации по снижению продолжительности сбраживания до 90 мин или ее увеличения до 420 мин. Также предлагается изменение состава сброженной заварки текущей стадии путем варьирования соотношения сброженной заварки с предыдущей стадией и охлажденной термофильной заквашенной заварки в диапазоне от 15:85 до 85:15 соответственно<sup>2</sup>. Однако, эти способы используются только для определенных сортов заварного хлеба, для отдельных условий производства и не направлены на дискретный режим.

В литературных источниках встречаются и другие способы сохранения и стабилизации биотехнологических свойств полуфабрикатов. Для этого на полуфабрикаты предлагается воздействовать излучениями, звуковыми колебаниями (Корячкина, Березина & Бобров, 2007; Твердохлеб & Ким, 1982; Шестаков & Волохова, 2001), вносить в состав их питательных смесей зернопродукты (Поландова, Быковченко & Логачева, 2004; Богатырева, Юматова & Миронова, 2008; Пащенко, 2004; Поландова, 2001; Поландова & Богатырева, 2000; Пащенко, 2003; Пащенко, Никитин & Парченко, 2004; Пащенко, Дерканова &

Ивкина, 1984), плодоовощное сырье (Малютина, Дерканосова & Гинс, 2003; Корячкина & Березина, 2001), побочные продукты пищевой промышленности (Ибрагимова, Римарева & Погоржельская, 2006; Аширова & Цыганова, 2009) для улучшения метаболизма культивируемых микроорганизмов, использовать новые сочетания микроорганизмов или сухие микробные композиции (Локачук, Савкина, Павловская, Фролова & Кузнецова, 2021; Локачук, Савкина, Павловская & Кузнецова, 2021; Локачук, Савкина, Хлесткин, Кузнецова, Павловская & Парахина, 2021; Парахина, Кузнецова, Савкина, Локачук, Гаврилова, Павловская & Барсукова, 2021). Но все названные способы рекомендованы не для сброженной заварки, а для жидкой ржаной закваски с заваркой и без заварки, жидких дрожжей, жидкой пшеничной закваски и др. Кроме того, предложенные способы направлены преимущественно на улучшение биотехнологических свойств этих полуфабрикатов, приготавливаемых по традиционным технологиям, и также не учитывают особенности дискретного режима.

Следует учитывать и тот момент, что сброженная заварка на основе осахаренной и термофильной заквашенной заварки, как кислотосодержащий полуфабрикат для сортов заварного хлеба, массово используется только в Республике Беларусь. Схожий ассортимент в других странах (Российской Федерации, Германии, странах Прибалтики, Северной Европы) вырабатывается с использованием других кислотосодержащих полуфабрикатов (густой ржаной закваски, жидкой ржаной закваски, осахаренной заварки, мезофильной и термофильной заквашенной заварки, сухой заварки, сухой композитной смеси и др.). Эти полуфабрикаты могут применяться или параллельно, или последовательно<sup>3</sup> (Decock & Cappelle, 2005; Torrieri, Pepe, Ventorino, Masi & Cavella, 2014). В странах Южной Европы и США заварной хлеб практически не производится, в некоторых случаях импортируется, что обусловлено национальными предпочтениями населения. Информация в области технологий хлеба из ржаной муки и смеси ржаной и пшеничной муки представлена незначительно (Preedy & Watson, 2019; Galanakis, 2020; Cauvain, 2017), а научные разработки в области технологии именно сброженной заварки и во все в этих странах отсутствуют.

На действующих хлебопекарных предприятиях Республики Беларусь используются индивидуально разработанные схемы приготовления сброженной заварки с учетом поступивших заявок торговых организаций на сорта заварного хлеба на следующие сутки. Но эти схемы не имеют единой системы, носят субъективный характер и изменяются ежедневно (Гуринова, Самуйленко & Назаренко, 2013). Кроме того, нет сведений

<sup>1</sup> Колосовская, Л. С. (2011). Сборник технологических инструкций по производству хлебобулочных изделий. Бизнесофсет.

<sup>2</sup> Там же.

<sup>3</sup> Колосовская, Л. С. (2011). Сборник технологических инструкций по производству хлебобулочных изделий. Бизнесофсет.

о влиянии комплекса факторов (количества полуфабриката с предыдущей стадии, температуры, продолжительности приготовления) на биотехнологические свойства сброженной заварки в различных производственных условиях.

Целью настоящей работы является исследование влияния технологических параметров процесса сбраживания жидкой ржаной заварки на ее биотехнологические свойства; установление зависимости общего количества культивируемых микроорганизмов, их активности, кислотности и подъемной силы сброженной заварки от содержания полуфабриката предыдущего приготовления, продолжительности и температуры сбраживания; определение оптимальных диапазонов технологических параметров, адаптированных для дискретного режима производства сортов заварного хлеба.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Материалы

Объектами исследований является сброженная заварка, полученная в условиях заварочного отделения ОАО «Гроднохлебпром». Температура сбраживания составляет от 25 °С до 35 °С, продолжительность процесса – от 60 мин до 480 мин. Массовая доля влаги в образцах сброженной заварки составляет 74–76 %. Сброженная заварка исследована по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям.

### Оборудование

Для определения микробиологических и технологических показателей использованы термостат, микроскоп, титровальная установка.

### Инструменты

Обработка полученных данных и графическая интерпретация проведена с помощью программного приложения для персонального компьютера Statgraphics Plus 5.0 Manugistics company.

### Методы

#### Органолептическая оценка

Органолептическая оценка полуфабрикатов проведена непосредственно сразу после отбора путем осмотра всей массы полуфабрикатов. В жидких ржаных кислото-содержащих полуфабрикатах определена консистенция,

вкус и запах. При проведении качественной оценки полуфабрикатов зафиксирована продолжительность его брожения или осахаривания<sup>4,5</sup>.

#### Определение кислотности

Кислотность полуфабрикатов определена методом титрования водной суспензии полуфабриката 0,1 N раствором NaOH, представленном в лабораторном практикуме по технологии хлебопекарного производства<sup>6</sup> и методических указаниях по проведению испытаний качества полуфабрикатов хлебопекарного производства<sup>7</sup>.

#### Определение подъемной силы

Подъемная сила полуфабрикатов определена ускоренным методом, представленном в лабораторном практикуме по технологии хлебопекарного производства<sup>8</sup> и методических указаниях по проведению испытаний качества полуфабрикатов хлебопекарного производства<sup>9</sup>.

#### Определение микробиологических показателей

Количественный учет дрожжевых клеток и молочнокислых бактерий и соотношение между ними проведен путем микроскопирования по методу Бургвица<sup>10</sup>. Количество мертвых дрожжевых клеток установлено путем смешивания полуфабриката с раствором метиленового синего с последующим микроскопированием (мертвые дрожжевые клетки при этом окрашивались в синий цвет)<sup>11</sup>. Для оценки активности молочнокислых бактерий использован метод М.П. Юргенсона и И.Ф. Романова

<sup>4</sup> Пучкова, Л. И. (2004). *Лабораторный практикум по технологии хлебопекарного производства*. ГИОРД.

<sup>5</sup> Карнышова, Л. В. & Севастей, Л. И. (2008). *Методические указания по проведению испытаний качества полуфабрикатов хлебопекарного производства*. Белтехнохлеб.

<sup>6</sup> Пучкова, Л. И. (2004). *Лабораторный практикум по технологии хлебопекарного производства*. ГИОРД.

<sup>7</sup> Карнышова, Л. В. & Севастей, Л. И. (2008). *Методические указания по проведению испытаний качества полуфабрикатов хлебопекарного производства*. Белтехнохлеб.

<sup>8</sup> Пучкова, Л. И. (2004). *Лабораторный практикум по технологии хлебопекарного производства*. ГИОРД.

<sup>9</sup> Карнышова, Л. В. & Севастей, Л. И. (2008). *Методические указания по проведению испытаний качества полуфабрикатов хлебопекарного производства*. Белтехнохлеб.

<sup>10</sup> Афанасьева, О. В. (2003). *Микробиология хлебопекарного производства*. Береста.

<sup>11</sup> Там же.

(1958 г.), который основан на скорости изменения цвета красителя (с голубой окраски в бесцветную окраску)<sup>12</sup>.

## Процедура исследования

Приготовление сброженной заварки осуществлялось по индивидуальной схеме, реализуемой в заварочном

отделении на ОАО «Гроднохлебпром» цех № 2 17.02.2022 при заявке на сорта заварного хлеба 11950 кг, представленной в Таблице 1. На первом этапе установлено влияние ежестадийного изменения технологических параметров приготовления сброженной заварки, используемых в индивидуальных схемах, на формирование ее биотехнологических свойств.

Таблица 1

Индивидуальная схема приготовления сброженной заварки

Время начала этапа приготовления	Фактическое количество при приготовлении, %			Начальная температура в производственных емкостях, °С			Продолжительность приготовления, мин			Пополнение расходной емкости сброженной заваркой
	охлажденная термофильная заквашенная заварка		сброженная заварка	емкость 1		емкость 2		емкость 3		
	емкость 1	емкость 2		емкость 1	емкость 2	емкость 1	емкость 2	емкость 3		
00.00	-	10	-	-	32	-	-	240	-	+
01.00	-	-	50	-	-	33	-	-	360	+
02.00	50	50	-	33	33	-	480	120	-	+
03.00	-	-	50	-	-	31	-	-	120	+
04.00	50	-	-	31	-	-	120	-	-	+
05.00	50	-	-	35	-	-	60	-	-	+
06.00	-	80	-	-	28	-	-	240	-	+
07.00	-	-	50	-	-	28	-	-	240	+
08.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
09.00	65	-	-	32	-	-	240	-	-	+
10.00	50	45	-	34	25	-	60	240	-	+
11.00	-	-	40	-	-	28	-	-	240	+
12.00	-	-	50	-	-	31	-	-	60	-
13.00	30	-	-	32	-	-	180	-	-	+
14.00	-	-	50	-	-	33	-	-	120	+

<sup>12</sup> Афанасьева, О. В. (2003). Микробиология хлебопекарного производства. Береста.

Окончание Таблицы 1

Время начала этапа приготовления	Фактическое количество при приготовлении, %			Начальная температура в производственных емкостях, °С			Продолжительность приготовления, мин			Пополнение расходной емкости сброженной заваркой
	охлажденная термофильная заквашенная заварка	сброженная заварка		емкость 1	емкость 2	емкость 3	емкость 1	емкость 2	емкость 3	
	емкость 1	емкость 2	емкость 3	емкость 1	емкость 2	емкость 3	емкость 1	емкость 2	емкость 3	
15.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16.00	-	50	-	-	28	-	-	360	-	+
17.00	-	-	-	-	-	-	240	-	-	+
18.00	-	-	90	-	-	33	-	-	240	+
19.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21.00	-	50	-	-	30	-	-	240	-	-
22.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

После завершения каждой стадии отбирался образец сброженной заварки для проведения исследований по характерным для нее показателям, к которым относят количественный и качественный состав культивируемых специфических микроорганизмов (общее количество дрожжевых клеток расы «Ивановская», мезофильных молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* штамма И-35, соотношение между дрожжевыми клетками и молочнокислыми бактериями, количество мертвых дрожжевых клеток), активность культивируемых микроорганизмов, кислотность сброженной заварки, подъемную силу сброженной заварки, органолептическую оценку. Далее осуществлена следующая стадия возобновления сброженной заварки путем отбора в расходную емкость, а затем добавления охлажденной термофильной заквашенной заварки с предыдущей стадии с учетом температуры и продолжительности сбраживания согласно используемой индивидуальной схеме.

На втором этапе установлена зависимость между биотехнологическими свойствами сброженной заварки и технологическими параметрами ее приготовления, используемыми в дискретном режиме производства сортов заварного хлеба. В качестве влияющих параметров (факторов) рассматривали:

(1) содержание охлажденной термофильной заквашенной заварки  $X_1$ , % от массы сброженной заварки текущей стадии, в производственном цикле изменяется от 10 % до 90 %;

(2) продолжительность сбраживания ржаной заварки  $X_2$ , мин, изменяется от 60 мин до 480 мин;

(3) температура сбраживания ржаной заварки  $X_3$ , °С, варьируется от 25 °С до 35 °С.

Процесс сбраживания оценивается по следующим показателям биотехнологических свойств:

(1) общее количество мезофильных молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* штамма И-35 («Ивановские») в сброженной заварке  $Y_1 \cdot 10^6$ , ед/г;

(2) активность мезофильных молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* штамма И-35 («Ивановские») в сброженной заварке  $Y_2$ , мин;

(3) кислотность сброженной заварки  $Y_3$ , град.;

(4) общее количество дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* расы «Ивановская» в сброженной заварке  $Y_4 \cdot 10^6$ , ед/г;

(5) количество мертвых дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* расы «Ивановская» в сброженной заварке  $Y_5$ , %;

(6) подъемная сила сброженной заварки  $Y_6$ , мин.

В прикладной программе Statgraphics Plus 5.0 Manugistics company построили план полного факторного эксперимента ( $3 \times 2^2$ ), состоящий из 12 опытов (Таблица 2). Согласно плану (Таблица 2) проведены экспериментальные исследования и получены значения показателей (выходных параметров) для каждого опыта. В исследованиях использованы полуфабрикаты с биотехнологи-

**Таблица 2**

Значения параметров при проведении экспериментов

№ опыта	Содержание охлажденной термофильной заквашенной заварки $X_1$ , % от массы сброженной заварки текущей стадии	Продолжительность сбраживания жидкой ржаной заварки $X_2$ , мин	Температура сбраживания жидкой ржаной заварки $X_3$ , °C
1	10	60	25
2	10	60	35
3	10	480	25
4	10	480	35
5	50	60	25
6	50	60	35
7	50	480	25
8	50	480	35
9	90	60	25
10	90	60	35
11	90	480	25
12	90	480	35

ческими свойствами, соответствующими рекомендациям технологических инструкций<sup>13</sup>.

На третьем этапе исследований проведена обработка экспериментальных данных для установления зависимостей биотехнологических свойств сброженной заварки при варьировании технологических параметров ее приготовления. Дан обобщенный анализ полученных данных и установлены диапазоны технологических параметров для дискретного режима производства сортов заварного хлеба.

### Анализ данных

Экспериментальные исследования проведены с пятикратной повторностью опытов. Обработка экспериментальных результатов проведена с использованием программного обеспечения Statgraphics Plus 5.0 Manugistics company.

<sup>13</sup> Колосовская, Л. С. (2011). Сборник технологических инструкций по производству хлебобулочных изделий. Бизнесофсет.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Исследование процесса сбраживания жидкой ржаной заварки

Исследованы микробиологические показатели сброженной заварки. На Рисунке 1 приведены изменения количественного состава микроорганизмов в порциях сброженной заварки, направляемой в расходную емкость, при варьировании технологических параметров процесса сбраживания. Показатели биотехнологических свойств в порциях сброженной заварки, направляемых в расходную емкость, представлены в Таблице 3.

**Таблица 3**

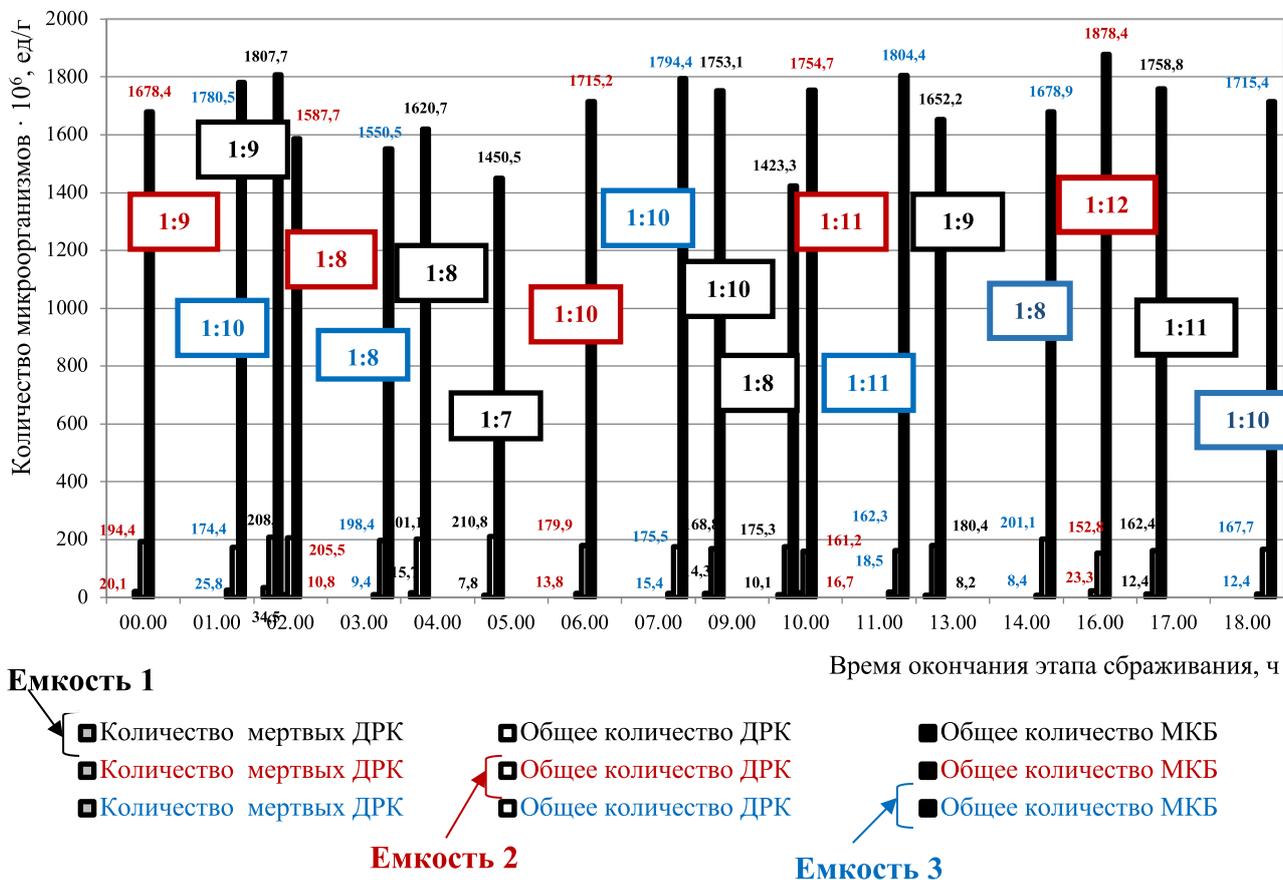
Показатели биотехнологических свойств в порциях сброженной заварки, направляемых в расходную емкость

Время окончания этапа сбраживания	Активность мезофильных молочнокислых бактерий, мин; кислотность, град.; подъемная сила, мин		
	емкость 1	емкость 2	емкость 3
00.00	–	53; 12,4; 21	–
01.00	–	–	47; 12,8; 23
02.00	43; 13,4; 27	55; 12,1; 18	–
03.00	–	–	55; 12,0; 20
04.00	50; 12,6; 25	–	–
05.00	60; 11,8; 20	–	–
06.00	–	48; 13,4; 26	–
07.00	–	–	47; 13,5; 27
09.00	56; 12,2; 21	–	–
10.00	64; 11,6; 22	47; 13,6; 27	–
11.00	–	–	41; 13,7; 31
13.00	59; 12,0; 21	–	–
14.00	–	–	52; 12,5; 24
16.00	–	39; 14,0; 30	–
17.00	54; 12,5; 27	–	–
18.00	–	–	50; 12,7; 26

Результаты, проведенных исследований, показывают, что порции сброженной заварки, направляемые в расходную емкость, имеют нестабильные микробиологические и технологические показатели. Общее количество молочнокислых бактерий в емкости 1 изменя-

**Рисунок 1**

Изменение количества дрожжевых клеток (ДРК) и молочнокислых бактерий (МКБ) в порциях сброженной заварки, направляемых в расходную емкость при варьировании технологических параметров процесса сбраживания



ется от  $1423,3 \cdot 10^6$  ед/г до  $1807,7 \cdot 10^6$  ед/г, в емкости 2 – от  $1587,7 \cdot 10^6$  ед/г до  $1878,4 \cdot 10^6$  ед/г, в емкости 3 – от  $1550,5 \cdot 10^6$  ед/г до  $1804,4 \cdot 10^6$  ед/г. Сброженная заварка направляется в расходную емкость как с активностью 39 мин, так и с активностью 64 мин. Общее количество дрожжевых клеток в емкости 1 изменяется от  $162,4 \cdot 10^6$  ед/г до  $210,8 \cdot 10^6$  ед/г, в емкости 2 – от  $152,8 \cdot 10^6$  ед/г до  $205,5 \cdot 10^6$  ед/г, в емкости 3 – от  $162,3 \cdot 10^6$  ед/г до  $201,1 \cdot 10^6$  ед/г. Соотношение между дрожжевыми клетками и молочнокислыми бактериями находится в диапазоне от 1:7 до 1:12. Отмечается значительная вариация мертвых дрожжевых клеток в диапазоне от 3,7% до 16,6%. Такое развитие культивируемых микроорганизмов обуславливает изменение органолептических и технологических показателей сброженной заварки (кислотность и подъемную силу). В порциях рассматриваемого полуфабриката отмечается изменение вкуса и аромата от слабовыраженного до несвойственного кислому. Консистенция сброженной заварки изменяется от равномерной до расслаивающейся. В полуфабрикате присутствуют неравномерно распределенные пузырьки разных размеров. Показатель

кислотности при этом изменяется в емкости 1 от 11,6 град. до 13,4 град., в емкости 2 – от 12,1 град. до 14,0 град., в емкости 3 – от 12,0 град. до 13,7 град. Показатель подъемной силы в емкости 1 варьируется от 20 мин до 27 мин, в емкости 2 – от 18 мин до 30 мин, в емкости 3 – от 20 мин до 31 мин.

### Определение технологических параметров процесса сбраживания жидкой ржаной заварки для дискретного режима производства заварных сортов хлеба

Варьирование состава сброженной заварки и технологических параметров ее приготовления закономерно обуславливают разную динамику совместно протекающих процессов кислотонакопления и газообразования. Именно эти процессы формируют биотехнологические свойства сброженной заварки.

Результаты исследований, отражающие изменение показателей биотехнологических свойств сброженной за-

**Таблица 4**

Показатели биотехнологических свойств сброженной заварки по результатам экспериментальных исследований

№ опыта	Общее количество мезофильных молочнокислых бактерий <i>Lactobacillus plantarum</i> штамма И-35 («Ивановские») в сброженной заварке $Y_1 \cdot 10^6$ , ед/г	Активность мезофильных молочнокислых бактерий <i>Lactobacillus plantarum</i> штамма И-35 («Ивановские») в сброженной заварке $Y_2$ , мин	Кислотность сброженной заварки $Y_3$ , град.	Общее количество дрожжевых клеток <i>Saccharomyces cerevisiae</i> расы «Ивановская» в сброженной заварке $Y_4 \cdot 10^6$ , ед/г	Количество мертвых дрожжевых клеток <i>Saccharomyces cerevisiae</i> расы «Ивановская» в сброженной заварке $Y_5$ , %	Подъемная сила сброженной заварки $Y_6$ , мин
1	2767,1 · 10 <sup>6</sup>	47	13,5	256,6 · 10 <sup>6</sup>	3,6	18
2	2904,4 · 10 <sup>6</sup>	38	14,2	231,1 · 10 <sup>6</sup>	8,7	23
3	3015,2 · 10 <sup>6</sup>	35	14,5	157,8 · 10 <sup>6</sup>	10,4	37
4	2806,3 · 10 <sup>6</sup>	43	13,8	136,1 · 10 <sup>6</sup>	18,9	42
5	2391,5 · 10 <sup>6</sup>	55	12,1	227,7 · 10 <sup>6</sup>	3,1	20
6	2656,6 · 10 <sup>6</sup>	51	12,8	198,4 · 10 <sup>6</sup>	7,1	28
7	2950,0 · 10 <sup>6</sup>	37	14,2	211,0 · 10 <sup>6</sup>	8,3	25
8	2880,4 · 10 <sup>6</sup>	43	13,8	186,1 · 10 <sup>6</sup>	14,3	32
9	2093,3 · 10 <sup>6</sup>	59	11,4	208,8 · 10 <sup>6</sup>	2,9	23
10	2313,0 · 10 <sup>6</sup>	56	12,0	180,9 · 10 <sup>6</sup>	4,9	30
11	2847,7 · 10 <sup>6</sup>	44	13,7	206,1 · 10 <sup>6</sup>	7,5	26
12	2786,1 · 10 <sup>6</sup>	47	13,4	201,2 · 10 <sup>6</sup>	12,9	38

варки в процессе планирования и проведения эксперимента, представлены в Таблице 4.

В результате обработки экспериментальных данных получены зависимости (1–6) для расчета показателей биотехнологических свойств сброженной ржаной заварки от содержания охлажденной термофильной заквашенной заварки, продолжительности и температуры сбраживания, которые имеют вид:

$$Y_1 = (2343,75 - 11,43 \cdot X_1 + 2,35 \cdot X_2 + 0,016 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,076 \cdot X_2 \cdot X_3) \cdot 10^6, \quad (1)$$

$$Y_2 = 63,54 + 0,21 \cdot X_1 - 0,089 \cdot X_2 + 0,0026 \cdot X_2 \cdot X_3, \quad (2)$$

$$Y_3 = 11,85 - 0,041 \cdot X_1 + 0,0087 \cdot X_2 + 0,000046 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,00027 \cdot X_1 \cdot X_2, \quad (3)$$

$$Y_4 = (355,26 - 0,3 \cdot X_2 - 3,36 \cdot X_3 + 0,0032 \cdot X_1 \cdot X_2) \cdot 10^6, \quad (4)$$

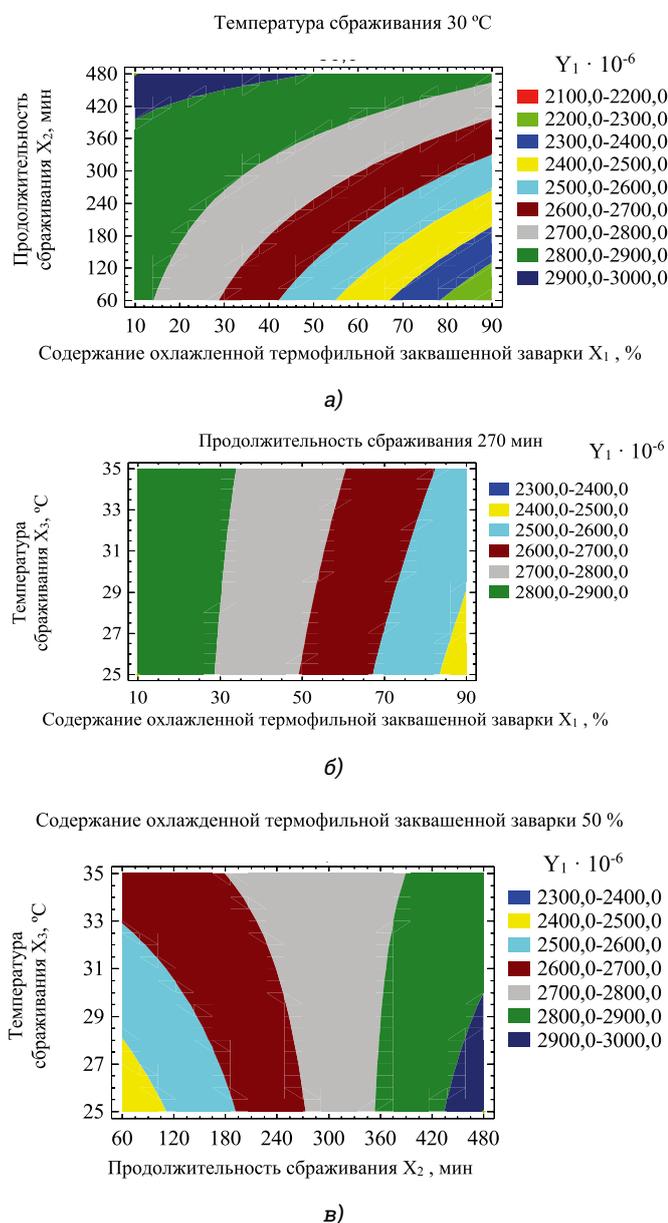
$$Y_5 = -9,93 + 0,059 \cdot X_1 - 0,001 \cdot X_2 + 0,52 \cdot X_3 - 0,0039 \cdot X_1 \cdot X_3 + 0,0007 \cdot X_2 \cdot X_3, \quad (5)$$

$$Y_6 = 9,36 + 0,034 \cdot X_2 + 0,37 \cdot X_3 - 0,0004 \cdot X_1 \cdot X_2. \quad (6)$$

Для выяснения сущности протекания процесса сбраживания жидкой ржаной заварки и установления закономерностей и технологических параметров для дискретного режима производства сортов заварного хлеба построены проекции поверхностей отклика показателей ее биотехнологических свойств от влияющих параметров (факторов). На Рисунке 2 приведены проекции поверхностей отклика для общего количества мезофильных молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* штамма И-35 («Ивановские») в сброженной заварке. При температуре сбраживания 30 °С, опираясь на имеющийся практический опыт, необходимое общее количество мезофильных молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* штамма И-35 («Ивановские») в диапазоне (2400–2600) · 10<sup>6</sup> ед/г достигается при использовании охлажденной термофильной заквашенной заварки в количестве от 42 % до 68 % от массы сброженной заварки текущей стадии и при продолжительности сбраживания 60 мин. Это же количество микроорганизмов может быть достигнуто и при использовании максимального количества охлажденной термофильной заквашенной заварки (90 %), что требует одновременного увеличения продолжительности сбраживания до диапазона (215–330) мин (Рисунок 2 (а)). Анализ зависимостей на Рисунке 2 (б) позволяет заключить, что при такой значительной продолжительности процесса сбраживания возможно

**Рисунок 2**

Проекция поверхностей отклика общего количества мезофильных молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* штамма И-35 («Ивановские») в сброженной заварке ( $Y_1$ ) при варьировании технологических параметров



поддержание температуры во всем интервале рассматриваемого диапазона, то есть от 25 °С до 35 °С. Существует возможность регулировать продолжительность процесса сбраживания при использовании традиционного количества охлажденной термофильной заквашенной заварки (50,0 %) в диапазоне от 60 мин до 215 мин при одновременном варьировании температуры от 25 °С до 33 °С (Рисунок 2 (в)).

Создаваемые условия для культивирования микроорганизмов влияют на их жизнеспособность, которая для

мезофильных молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* штамма И-35 («Ивановские») характеризуется их активностью и кислотностью сброженной заварки. Увеличение содержания охлажденной термофильной заквашенной заварки в составе сброженной заварки приводит к увеличению показателя активности рассматриваемых молочнокислых бактерий, то есть к ее ухудшению. Увеличение температуры и продолжительности сбраживания в рассматриваемом диапазоне приводит к улучшению активности мезофильных молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* штамма И-35 («Ивановские»), то есть к снижению этого показателя. Улучшение активности микроорганизмов закономерно способствует более активному кислотонакоплению в рассматриваемом полуфабрикате, что отражается в динамичном росте показателя кислотности.

В то же время в сброженной заварке осуществляется культивирование дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* расы «Ивановская», жизнедеятельность которых обеспечивает процесс газообразования полуфабрикатов и, как следствие, обеспечение структуры пористости сортов заварного хлеба.

Анализ зависимостей (4–6) показателей биотехнологических свойств сброженной заварки, характеризующих жизнедеятельность культивируемых дрожжевых клеток показывает, что продолжительность сбраживания может изменяться в диапазоне от 60 мин до 240 мин. Увеличение продолжительности сбраживания приводит к существенному росту мертвых дрожжевых клеток. К такому же эффекту приводит и увеличение температуры сбраживания более 31 °С.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования позволяют заключить, что ряд порций сброженной заварки, направляемой в расходную емкость, не соответствуют существующим рекомендациям<sup>14,15,16</sup> по соотношению между дрожжевыми клетками и молочнокислыми бактериями (показатель находится на уровне ниже, чем 1:10), содержанию мертвых дрожжевых клеток (показатель составляет более 5,0 % от общего количества дрожжевых клеток),

<sup>14</sup> Колосовская, Л. С. (2011). *Сборник технологических инструкций по производству хлебобулочных изделий*. Бизнесофсет.

<sup>15</sup> Карнышова, Л. В. & Севастей, Л. И. (2008). *Методические указания по проведению испытаний качества полуфабрикатов хлебопекарного производства*. Белтехнохлеб.

<sup>16</sup> Старовойтова, А. И., Базан, А. И., Фидаров, Ф. М. & Федоренчик, Л. А. (2002). *Методические указания по проведению санитарно-микробиологического контроля на хлебопекарных предприятиях*. Белтехнохлеб.

кислотности (показатель составляет более 13,0 град.) и подъемной силе (показатель превышает 25 мин).

Исследованиями выявлено, что на динамику количественного состава культивируемых микроорганизмов оказывает влияние соотношение между сброженной заваркой предыдущей стадии приготовления и охлажденной термофильной заквашенной заваркой, продолжительность и температура сбраживания. Так при увеличении содержания охлажденной термофильной заквашенной заварки на текущей стадии сбраживания (более 60 %), продолжительности сбраживания (более 180 мин) и температуры сбраживания (более 30 °C) увеличивается общее количество молочнокислых бактерий, соотношение между микроорганизмами в сторону молочнокислых бактерий и их активность. Использование в составе сброженной заварки на текущей стадии от 10 % до 40 % охлажденной термофильной заквашенной заварки, продолжительности сбраживания от 60 мин до 180 мин и температуры (25–30) °C позволяет активировать развитие дрожжевых клеток, что отражается в увеличении их общего количества, снижении соотношения их с молочнокислыми бактериями в сторону дрожжевых клеток и количества мертвых дрожжевых клеток. Представленная тенденция обусловлена известной закономерностью развития дрожжевых клеток и молочнокислых бактерий при влиянии температуры, продолжительности брожения и наличия питательных веществ и согласуется с некоторыми положениями Л. И. Кузнецовой, Н. Д. Синявской, О. В. Афанасьевой, Е. Г. Фленовой<sup>17</sup>.

Разные биотехнологические свойства порций сброженной заварки влияют на процессы кислотонакопления и газообразования в порциях теста, приготавливаемых с использованием данного полуфабриката, что будет требовать внесения корректирующих мероприятий на более поздних стадиях технологического процесса. Это не всегда представляется возможным и в большинстве случаев является неэффективным. Такая ситуация наблюдается и при приготовлении сброженной заварки в производственном цикле на других хлебопекарных предприятиях Республики Беларусь. Следствием реализации такого производственного цикла являются многочисленные дефекты сброженной заварки, устранение которых требует оперативных корректирующих мероприятий, которые не всегда осуществимы на текущей стадии производственного цикла и малоэффективны в дискретном режиме (Акулич & Самуйленко, 2020; Самуйленко & Акулич, 2020; Самуйленко & Акулич, 2021).

Таким образом, результаты проведенных исследований подтверждают, что биотехнологические свойства сбро-

женной заварки в дискретном режиме производства сортов заварного хлеба преимущественно обусловлены изменением количественного и качественного состава рассматриваемого полуфабриката, технологических параметров его приготовления. Реализация непрерывного производственного цикла приготовления сброженной заварки, полученной с использованием осахаренной заварки и термофильной заквашенной заварки, в дискретном режиме должна базироваться на научно обоснованном подходе к регулированию состава и технологических параметров приготовления названного полуфабриката в современных условиях производства. Стоит отметить, что исследования в этой области в настоящее время отсутствуют.

Анализ результатов исследования, представленных на Рисунке 2, позволяет заключить, что на биотехнологические свойства сброженной заварки наибольшее влияние оказывает продолжительность сбраживания ( $X_2$ , мин). В некоторых случаях, наблюдается совместное влияние продолжительности сбраживания ( $X_2$ , мин) и содержания охлажденной термофильной заквашенной заваркой ( $X_1$ , %), или температуры сбраживания ( $X_3$ , °C). Это связано с тем, что продолжительность сбраживания обуславливает жизненный цикл культивируемых микроорганизмов: период адаптации к новым условиям, период активного размножения, в котором превалирует количество жизнеспособных клеток над мертвыми, период стабилизации между количеством жизнеспособных клеток и мертвых клеток, период снижения активности микроорганизмов и их гибель. Этот факт подтверждается исследованиями и других ученых<sup>18</sup>. Динамика этого процесса и смещение ее во временном диапазоне обусловлена, с одной стороны, содержанием используемой охлажденной термофильной заквашенной заварки в составе сброженной заварки, а с другой стороны, диапазоном используемой температуры сбраживания.

Как известно, ведущая роль в технологии сброженной заварки, используемой для производства сортов заварного хлеба, отведена молочнокислым бактериям. Их жизнедеятельность обеспечивает накопление необходимого количества, в первую очередь, веществ кислой реакции, которые обуславливают реологические свойства как полуфабрикатов, так и сортов заварного хлеба. Кроме того, молочнокислые бактерии являются продуцентами вкусо-ароматических веществ, которые обеспечивают уникальность сортов заварного хлеба, вырабатываемых хлебопекарными предприятиями Республики Беларусь. Внесение охлажденной термофильной заквашенной заварки менее рекомендуемых по традиционной технологии 50 % в сброженную заварку

<sup>17</sup> Кузнецова, 2003; <sup>8</sup> Афанасьева, О. В. (2003). *Микробиология хлебопекарного производства*.

<sup>18</sup> Афанасьева, О. В. (2003). *Микробиология хлебопекарного производства*.

приводит к более динамичным процессам кислотонакопления и газообразования за более короткую продолжительность сбраживания. При внесении охлажденной термофильной заквашенной заварки более 50 % в сброженную заварку происходит замедление этих процессов и необходимость проведения процесса сбраживания более длительный период. Этот факт учитывается только на практике при производстве отдельного ассортимента<sup>19</sup>, но четкой взаимосвязи между использованием определенного количества охлажденной термофильной заквашенной заварки и продолжительностью процесса сбраживания в таких условиях ранее выявлено не было.

Результаты исследований о развитии молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* штамма И-35 («Ивановские») в сброженной заварке в дискретном режиме показывают, что стабильная их жизнедеятельность отмечается при использовании охлажденной термофильной заквашенной заварки в составе сброженной заварки от 40 % до 70 % от массы полуфабриката текущей стадии, температуры сбраживания от 25 °С до 33 °С, продолжительности сбраживания не более 240 мин. В то же время дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae* расы «Ивановская» в сброженной заварке стабильно развиваются при температуре от 25 °С до 31 °С и рациональном количестве используемой в производственном цикле охлажденной термофильной заквашенной заварки от 40 % до 78 % от массы сброженной заварки текущей стадии.

Комплексная оценка влияния всех технологических параметров на одновременную стабилизацию жизнедеятельности дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* расы «Ивановская» и мезофильных молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* штамма И-35 («Ивановские»), сохранение соотношения между ними не менее 1:10 и, как следствие, стабильность процесса сбраживания, с учетом рациональной и согласованной работы заварочных отделений и хлебопекарных печей предприятий Республики Беларусь позволяет установить диапазоны изменения технологических параметров в дискретном режиме производства сортов заварного хлеба:

- (1) содержание охлажденной термофильной заквашенной заварки, используемой для приготовления в составе сброженной заварки в производственном цикле, от 40 % до 70 % от массы сброженной заварки текущей стадии;
- (2) продолжительность сбраживания жидкой ржаной заварки, от 120 мин до 240 мин;
- (3) температура сбраживания жидкой ржаной заварки, от 25 °С до 30 °С.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение процесса сбраживания жидких ржаных заварок и определение технологических параметров их приготовления для дискретного режима работы хлебопекарных предприятий позволяет устранить существенный пробел в знаниях по технологии отдельных сортов заварного хлеба из ржаной муки и смеси ржаной и пшеничной муки, возникший с учетом современного состояния и развития хлебопекарной отрасли Республики Беларусь.

Исследованиями установлено, что изменение технологических параметров приготовления сброженной заварки на основе осахаренной и термофильной заквашенной заварки в дискретном режиме производства сортов заварного хлеба обуславливает нестабильность количественного и качественного состава культивируемых микроорганизмов, показателей качества сброженной заварки и, как следствие, состояние ее готовности и целесообразности использования далее в процессе тестоприготовления.

Выявлены зависимости изменения биотехнологических свойств сброженной заварки (количественного состава молочнокислых бактерий и дрожжевых клеток, их активности, кислотности, подъемной силы) от содержания охлажденной термофильной заквашенной заварки, продолжительности и температуры сбраживания. Установлено, что содержание охлажденной термофильной заквашенной заварки, используемой для приготовления сброженной заварки в дискретном режиме производства сортов заварного хлеба, составляет от 40 % до 70 % от массы сброженной заварки текущей стадии, продолжительность сбраживания – от 120 мин до 240 мин, температура сбраживания – от 25 °С до 30 °С.

Полученные новые данные позволяют прогнозировать биотехнологические свойства сброженной заварки в дискретном режиме производства сортов заварного хлеба, рационально регулировать технологические параметры приготовления данного полуфабриката, а их применение в производственном цикле позволяет существенно повысить культуру технологического процесса, минимизировать влияние субъективных факторов.

Оптимальные диапазоны технологических параметров процесса сбраживания в дискретном режиме производства отдельных сортов заварного хлеба могут быть использованы в разработке автоматизированного количественного учета сброженной заварки в современных постоянно изменяющихся условиях производства.

<sup>19</sup> Колосовская, Л. С. (2011). Сборник технологических инструкций по производству хлебобулочных изделий.

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Акулич А.В.:** задумал и разработал анализ, разработал методологию и ее анализ, предоставил данные и инструменты анализа, провел анализ, написал статью.

**Самуйленко Т.В.:** задумала и разработала анализ, разработала методологию и ее анализ, предоставила данные и инструменты анализа, провела анализ, написала статью.

## ЛИТЕРАТУРА

- Акулич, А. В., & Самуйленко, Т. Д. (2020). Анализ производственного цикла заварочных отделений хлебопекарных предприятий Республики Беларусь. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 126–138. <https://doi.org/10.36107/spfr.2020.i4>.
- Аширова, Ю. А., & Цыганова, Т. Б. (2009). Технология ржаных полуфабрикатов с применением послеспиртовой барды из топинамбура. *Хлебопродукты*, (11), 44–46.
- Богатырева, Т. Г., Юматова, Н. П., & Миронова, А. А. (2008). Использование закваски на тритикалевой муке при производстве ржано-пшеничного хлеба. *Кондитерское и хлебопекарное производство*, (8), 23–25.
- Гуринова, Т. А., Самуйленко, Т. Д., & Назаренко, Е. А. (2013). Исследование технологического процесса приготовления сброженных заварок в постоянно изменяющихся условиях работы хлебопекарных предприятий. *Вестник Могилевского государственного университета продовольствия*, 2(15), 9–13.
- Ибрагимова, С. И., Римарева, Л. В., & Погоржельская, Н. С. (2006). Особенности условий культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на питательных средах, сконструированных на основе пшеничного сусла и спиртовой барды. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (6), 44–47.
- Корячкина, С. Я., & Березина, Н. А. (2001). Использование нетрадиционного сырья при производстве ржаных заквасок. *Известия вузов. Пищевая технология*, (4), 99.
- Корячкина, С. Я., Березина, Н., & Бобров, А. (2007). Разработка способа активации ржаных заквасок. *Хлебопродукты*, (12), 58–59.
- Кузнецова, Л. И., Синявская, Н. Д., Афанасьева, О. В., & Фленова, Е. Г. (2003). *Производство заварных сортов хлеба с использованием ржаной муки*. СПб филиал ГосНИИХП.
- Локачук, М. Н., Савкина, О. А., Павловская, Е. Н., Фролова, Ю. М., & Кузнецова, Л. И. (2021). Фунгицидная активность заквасочных лактобацилл. *Хлебопечение России*, (3), 26–32.
- Локачук, М. Н., Савкина, О. А., Хлесткин, В. К., Кузнецова, Л. И., Павловская, Е. Н., & Парахина, О. И. (2021). Состав микробных сообществ спонтанных густых ржаных заквасок. *Хлебопечение России*, (2), 50–55.
- Малютина, Т. Н., Дерканосова, Н. М., & Гинс, В. К. (2003). Использование пюре из якона при производстве жидкой ржаной закваски. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (11), 82–84.
- Парахина, О. И., Кузнецова, Л. И., Савкина, О. А., Локачук, М. Н., Гаврилова, Т. А., Павловская, Е. Н., & Барсукова, Т. Т. (2021). Разработка сухой микробной композиции на основе безглютенового сырья. *Хлебопечение России*, (3), 33–39.
- Пашенко, Л. П. (2003). Применение чечевичной муки в производстве жидких дрожжей. *Известия вузов. Пищевая технология*, (2–3), 48–51.
- Пашенко, Л. П. (2004). Жидкие закваски с применением нутовой муки. *Хлебопечение России*, (6), 14–15.
- Пашенко, Л. П., Дерканосова, Н. М., & Ивкина, Н. В. (1984). Применение гидролизатов хлебной крошки в жидких ржаных заквасках. *Хлебопекарная и кондитерская промышленность*, (3), 31–33.
- Пашенко, Л. П., Никитин, И. А., & Парченко, О. С. (2004). Экструдированная композиция как компонент питательной смеси жидких биологических разрыхлителей. *Хлебопечение России*, (5), 26–28.
- Поландова, Р. Д. (2001). Приготовление жидких дрожжей на мучной осахаренной заварке. *Хлебопечение России*, (6), 26–27.
- Поландова, Р. Д., & Богатырева, Т. Г. (2000). Современные технологии приготовления жидких дрожжей на хлебопекарных предприятиях. *Хлебопечение России*, (4), 18–19.
- Поландова, Р. Д., Быковченко, Т. В., & Логачева, Л. С. (2004). Приготовление жидких дрожжей на хлебопекарных предприятиях: проблемы и пути их решения. *Хлебопечение России*, (4), 12–13.
- Савкина, О. А., Кузнецова, Л. И., Павловская, Е. Н., Локачук, М. Н., & Парахина, О. И. (2021). Стартовые композиции для приготовления разных видов заквасок. *Хлебопечение России*, (6), 41–44.
- Самуйленко, Т. Д., & Акулич, А. В. (2020). Исследование процесса осахаривания ржаных заварок в техноло-

- гии заварного хлеба при дискретном режиме производства. *Health, Food & Biotechnology*, 2(2), 60–74. <https://doi.org/10.36107/hfb.2020.i2.s342>
- Самуйленко, Т. Д., & Акулич, А. В. (2021). *Технологии сброженной заварки в дискретном режиме производства заварных сортов хлеба*.
- Твердохлеб, Л. Л., & Ким, Л. В. (1982). Интенсивность брожения ржаного теста при обработке закваски ультразвуком. *Хлебопекарная и кондитерская промышленность*, (6), 32–34.
- Шестаков, С. Д., & Волохова, Т. П. (2001). Технология активации хлебопекарных дрожжей с применением метода кавитационной дезинтеграции. *Хлебопечение России*, (4), 39–40.
- Cauvain, S. P. (2017). *Baking problems solved*. Woodhead Publishing.
- Decock, P., & Cappelle, S. (2005). Bread technology and sourdough technology. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.04.012>
- Galanakis, C. (2020). *Trends in wheat and bread making*. Academic Press.
- Preedy, V. R., & Watson, R. R. (2019). *Flour and breads and their fortification in health and disease prevention*. Academic Press.
- Torrieri, E., Pepe, O., Ventrino, V., Masi, P., & Cavella, S. (2014). Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. *LWT – Food Science and Technology*, 56, 508–516. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.005>.
- ## REFERENCES
- Akulich, A.V., & Samuilenko, T. D. (2020). Analysis of the production cycle of fermentation rooms of bakery enterprises of the Republic of Belarus. *Hranenie i pererabotka sel'hozsyrya* [Storage and Processing of Farm Products], (4), 126–138. <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.i4>.
- Akulich, A.V., Samuilenko, T. D., & Timakova, R. T. (2021). Development of the component composition of dry composite mixtures for national types of bread of improved nutritional value. *Hranenie i pererabotka sel'hozsyrya* [Storage and Processing of Farm Products], (4), 158–171. <https://doi.org/10.36107/spfp.2021.240>.
- Ashirova, Yu. A., & Tsyganova, T. B. (2009). The technology of rye semi-finished products with the use of post-alcohol Jerusalem artichoke bards. *Hleboprodukty* [Bread products], (11), 44–46.
- Bogatyreva, T. G., Yumatova, N. P. & Mironova, A. A. (2008). The use of sourdough on triticale flour in the production of rye-wheat bread. *Konditerskoe i hlebopekarnoe proizvodstvo* [Confectionery and bakery production], (8), 23–25.
- Gurina, T. A., Samuilenko, T. D., & Nazarenko, E. A. (2013). Investigation of the technological process of preparation of fermented brews in the constantly changing working conditions of bakery enterprises. *Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya* [Bulletin of the Mogilev State University of Food], 2(15), 9–13.
- Ibragimova, S. I., Rimareva, L. V. & Pogorzelskaya, N. S. (2006). Features of the conditions for the cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* on nutrient media constructed on the basis of wheat wort and alcohol bard. *Hranenie i pererabotka sel'hozsyrya* [Storage and Processing of Farm Products], (6), 44–47.
- Koryachkina, S. Ya. & Berezina, N. A. (2001). The use of unconventional raw materials in the production of rye starter cultures. *Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya* [News about universities. Food technology], (4), 99.
- Koryachkina, S. Ya., Berezina, N. & Bobrov, A. (2007). Development of a method for activating rye starter cultures. *Hleboprodukty* [Bread products], (12), 58–59.
- Kuznetsova, L. I., Sinyavskaya, N. D., Afanas'eva, O. V., & Flenova, E. G. (2003). *Proizvodstvo zavarnykh sortov hleba s ispol'zovaniem rzhanoj muki* [Production of custard breads using rye flour]. St. Petersburg branch of GosNIIKHP.
- Lokachuk, M. N., Savkina, O. A., Pavlovskaya, E. N., Frolova, Yu. M., & Kuznetsova, L. I. (2021). Fungicidal activity of starter lactobacilli. *Hlebopechenie Rossii* [Bakery of Russia], (3), 26–32.
- Lokachuk, M. N., Savkina, O. A., Khlestkin, V. K., Kuznetsova, L. I., Pavlovskaya, E. N., & Parakhina, O. I. (2021). The composition of microbial communities of spontaneous thick rye starter cultures. *Hlebopechenie Rossii* [Bakery of Russia], (2), 50–55.
- Malyutina, T. N., Derkanosova, N. M. & Gins, V. K. (2003). The use of yacon puree in the production of liquid rye sourdough. *Hranenie i pererabotka sel'hozsyrya* [Storage and Processing of Farm Products], (11), 82–84.
- Parakhina, O. I., Kuznetsova, L. I., Savkina, O. A., Lukashuk, M. N., Gavrilova, T. A., Pavlovskaya, E. N., & Barsukova, T. T. (2021). Development of a dry microbial composition based on gluten-free raw materials. *Hlebopechenie Rossii* [Bakery of Russia], (3), 33–39.
- Pashchenko, L. P. (2003). The use of lentil flour in the production of liquid yeast. *Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya* [News about universities. Food technology], (2–3), 48–51.

- Pashchenko, L. P. (2004). Liquid starter cultures using chickpea flour. *Hlebopechenie Rossii* [Bakery of Russia], (6), 14–15.
- Pashchenko, L. P., Derkanosova, N. M. & Ivkina, N. V. (1984). The use of breadcrumb hydrolysates in liquid rye ferments. *Hlebopekarnaya i konditerskaya promyshlennost'* [Bakery and Confectionery Industry], (3), 31–33.
- Pashchenko, L. P., Nikitin, I. A. & Parchenko, O. S. (2004). The extruded composition as a component of a nutrient mixture of liquid biological leavening agents. *Hlebopechenie Rossii* [Bakery of Russia], (5), 26–28.
- Polandova, R. D. (2001). Preparation of liquid yeast on flour sugar-coated tea leaves. *Hlebopechenie Rossii* [Bakery of Russia], (6), 26–27.
- Polandova, R. D. & Bogatyreva, T. G. (2000). Modern technologies for the preparation of liquid yeast at bakeries. *Hlebopechenie Rossii* [Bakery of Russia], (4), 18–19.
- Polandova, R. D., Bykovchenko, T. V. & Logacheva, L. S. (2004). Preparation of liquid yeast at bakeries: problems and ways to solve them. *Hlebopechenie Rossii* [Bakery of Russia], (4), 12–13.
- Savkina, O. A., Kuznetsova, L. I., Pavlovskaya, E. N., Lukashuk, M. N., & Parakhina, O. I. (2021). Starter compositions for the preparation of different types of starter cultures. *Hlebopechenie Rossii* [Bakery of Russia], (6), 41–44.
- Samuylenko, T. D., & Akulich, A.V. (2020). Investigation of the process of saccharification of rye brews in the technology of custard bread with a discrete production mode. *Health, Food & Biotechnology*, 2(2), 60–74. <https://doi.org/10.36107/hfb.2020.i2.s342>
- Samuylenko, T. D., & Akulich, A.V. (2021). *Tekhnologii sbrozhennoj zavarki v diskretnom rezhime proizvodstva zavarnyh sortov hleba* [Technologies of fermented brewing in the discrete mode of production of custard bread varieties].
- Tverdokhlebl, L. L. & Kim, L. V. (1982). The intensity of fermentation of rye dough during the treatment of sourdough with ultrasound. *Hlebopekarnaya i konditerskaya promyshlennost'* [Bakery and Confectionery industry], (6), 32–34.
- Shestakov, S. D. & Volokhova, T. P. (2001). The technology of activation of baking yeast using the method of cavitation disintegration. *Hlebopechenie Rossii* [Bakery of Russia], (4), 39–40.
- Cauvain, S. P. (2017). *Baking problems solved*. Woodhead Publishing.
- Decock, P., & Cappelle, S. (2005). Bread technology and sourdough technology. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.04.012>
- Galanakis, C. (2020). *Trends in wheat and bread making*. Academic Press.
- Preedy, V. R., & Watson, R. R. (2019). *Flour and breads and their fortification in health and disease prevention*. Academic Press.
- Torrieri, E., Pepe, O., Ventrino, V., Masi, P., & Cavella, S. (2014). Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. *LWT – Food Science and Technology*, 56, 508–516. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.005>

<https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s158>

УДК 678.21.38

# Исследование влияния добавки «Полиматерия» на способность к биодеструкции полиэтиленовых пленок

И. А. Кирш<sup>1</sup>, И. С. Тверитникова<sup>1</sup>, О. В. Безнаева<sup>1</sup>, М. И. Губанова<sup>1</sup>,  
О. А. Банникова<sup>1</sup>, Т. И. Чалых<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Москва, Россия

<sup>2</sup> Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова, Москва, Россия

## Корреспонденция:

**Тверитникова Изабелла Сергеевна**

Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ),  
125080, г. Москва, Волоколамское ш., 11.  
E-mail: tveritnikova@mgupp.ru

## Конфликт интересов:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов

Поступила: 10.12.2022

Принята: 26.12.2022

Опубликована: 30.12.2022

Copyright: © 2022 Авторы

## АННОТАЦИЯ

**Введение.** Статья посвящена исследованию влияния добавки «Полиматерия» на свойства полиэтиленовых пленок и их способность к биоразложению. Добавка «Полиматерия» представлена производителем, как добавка, ускоряющая процесс биоразложения полиолефиновых пленок. Однако исследований по данной добавке, опубликованных в литературе, ранее не представлено.

**Цель.** Цель статьи – провести исследования полимерных пленок, содержащих добавку «Полиматерия», на их эксплуатационные характеристики и оценить образцы пленок на способность к биоразложению.

**Материалы и методы.** В исследовании использовали метод определения водопоглощения, метод определения стойкости к действию химических сред, метод искусственного старения полимерных материалов под воздействием ультрафиолета и температуры, метод испытания на одноосное растяжение, комплексные исследования пленок на биоразложение методом компостирования, определение санитарно-гигиенических свойств экспериментальных образцов при экспозиции в модельных средах.

**Результаты.** Были получены полимерные пленки на основе полиэтилена и добавки «Полиматерия» методом экструзии. В процессе исследования установлено, что физико-механические свойства при воздействии УФ-облучения изменяются не так интенсивно по сравнению с деформационно-прочностными характеристиками образцов, которые подвергались искусственному старению при заданной температуре. Установлено, что за 28 часов воздействия термоокислительного старения полиэтиленовые пленки разрушаются и теряют свою целостность. В процессе компостирования относительное удлинение при разрыве образцов, обработанных УФ, уменьшается в 1,5–2 раза по сравнению со значениями до компостирования. При компостировании 7 месяцев образцы не изменили свои размеры, и их масса тоже не изменилась.

**Выводы.** Исследования, проведенные санитарно-химическим методом, позволили определить, что в среде хлорида натрия и дистиллированной воде после трех недель экспозиции полиэтиленовых пленок, содержащих добавку, определяется резкий запах, превышающий критерий в 2 балла. Следовательно, такие пленки нельзя использовать для контакта с пищевыми продуктами.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

полиэтилен, биодеструкция, компостирование, ультрафиолет, оксо-биоразлагаемые добавки

**Для цитирования:** Кирш, И. А., Тверитникова, И. С., Безнаева, О. В., Губанова, М. И., Банникова, О. А., & Чалых, Т. И. (2022). Исследование влияния добавки «Полиматерия» на способность к биодеструкции полиэтиленовых пленок. *Health, Food & Biotechnology*, 4(4), 56–64. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s158>



<https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s158>

# Study of the Influence of the 'Polymateria' Additive on the Polyethylene Films Ability to Biodegrade

Irina A. Kirsh<sup>1</sup>, Izabella S. Tveritnikova<sup>1</sup>, Olga V. Beznaeva<sup>1</sup>,  
Marina I. Gubanova<sup>1</sup>, Olga A. Bannikova<sup>1</sup>, Tatyana I. Chalykh<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Russian Biotechnological University  
(BIOTECH University), Moscow, Russia

<sup>2</sup> Russian University of Economics named  
after G. V. Plekhanov, Moscow, Russia

## Correspondence:

**Isabella S. Tveritnikova**,  
Russian Biotechnological University  
(BIOTECH University),  
11, Volokolamskoe sh., Moscow,  
125080, Russia.  
E-mail: [tveritnikova@mgupp.ru](mailto:tveritnikova@mgupp.ru)

**Declaration of competing interest:**  
none declared.

**Received:** 10.12.2022

**Accepted:** 26.12.2022

**Published:** 30.12.2022

**Copyright:** © 2022 The Authors

## ABSTRACT

**Introduction.** The article is devoted to the study of the influence of the 'Polymateria' additive on the properties of polyethylene films and their biodegradability. The additive 'Polymateria' is presented by the manufacturer as an additive that accelerates the process of biodegradation of polyolefin films. However, studies on this additive have not previously been published.

**Purpose.** The purpose of the research is to study polymer films containing the 'Polymateria' additive for their performance characteristics and evaluate film samples for biodegradability.

**Materials and Methods.** The following research methods were used: a method for determining water absorption, a method for determining resistance to chemical media, a method for artificial aging of polymeric materials under the influence of ultraviolet radiation and temperature, a uniaxial tensile test method, comprehensive studies of films for biodegradation by composting, determination of the sanitary and hygienic properties of experimental samples during exposure in simulation environments.

**Results.** Polymer films based on polyethylene and the 'Polymateria' additive were obtained by extrusion. In the course of the study, it was found that the physical and mechanical properties under the influence of UV irradiation did not change as intensively as compared with the deformation-strength characteristics of samples that were subjected to artificial aging at the desired temperature. It has been established that within 28 hours of exposure to thermal-oxidative aging, polyethylene films were destroyed and lost their integrity. In the process of composting, the relative elongation at break of samples treated with UV decreases by 1.5-2 times compared to the values before composting. When composted for 7 months, the samples did not change their size, and their weight did not change either.

**Conclusion.** Studies by the sanitary-chemical method made it possible to determine that in the environment of sodium chloride and distilled water after three weeks of exposure to polyethylene films containing the additive, a pungent odor is determined that exceeds the criterion of 2 points. Thus, such films cannot be used for food processing.

## KEYWORDS

polyethylene, biodegradation, composting, ultraviolet, oxo-biodegradable additives



**To cite:** Kirsch, I. A., Tveritnikova, I. S., Beznaeva, O. V., Gubanova, M. I., Bannikova, O. A., & Chalykh, T. I. (2022). Study of the influence of the additive "Polymateria" on the ability to biodegrade polyethylene films. *Health, Food & Biotechnology*, 4(4), 56–64. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s158>

## ВВЕДЕНИЕ

Большинство синтетических полимеров не поддаются биологическому разложению. В то же время их захоронение оказывает негативное воздействие на окружающую среду. Именно поэтому в последнее время все больше внимания уделяется переработке полимеров и созданию биоразлагаемых полимерных материалов на основе синтетических полимеров (Kirsh et al., 2019). Создание биоразлагаемых полимерных материалов предполагает добавление к ним специальных добавок, ускоряющих деструкцию полимерной матрицы, что ускорит процесс их ассимиляции в окружающей среде.

Сегодня уже существуют биодеструктируемые материалы на основе синтетических полимеров, содержащие следующие типы добавок (Kirsh et al., 2019):

- (1) для ускорения процессов фотоокислительной деструкции;
- (2) для ускорения процессов окислительной деструкции;
- (3) для ускорения разложения под действием микроорганизмов.

В первую очередь интересны исследования, направленные на придание биоразлагаемости и на полиолефины, которые составляют половину всех производимых полимеров. Они очень устойчивы к внешнему воздействию и после использования являются одним из основных источников загрязнения окружающей среды. По этой причине многие исследователи уделяют внимание проблеме создания биоразлагаемых композиций на основе полиолефинов (Mihai et al., 2020; Faruk et al., 2014; Faruk et al., 2012).

Срок разложения таких биоразлагаемых материалов зависит от типа добавки или катализирующей системы, которые добавляют в полиэтилен или другой полимер. В основном их используют для производства пакетов, пленок, лотков, различных изделий с небольшим сроком службы. В настоящее время российскими и европейскими производителями уже производятся такие биодеструктируемые полиэтиленовые пакеты, но в меньшем количестве, чем чистый полиэтилен. Процесс изготовления как чистого полиэтилена, так и биоразлагаемого материала почти одинаковый, только вначале экструзии в дозаторе происходит смешение полиэтилена с добавкой, ускоряющих процесс биодеструкции. При этом стоимость таких биодegradируемых пакетов выше на 15–20 % за счет вводимых добавок, катализирующих деструкцию полимера<sup>1</sup>.

На сегодняшний день существуют добавки для ускорения фотоокислительной деструкции полимера (фото-разлагаемые добавки) или окислительной деструкции (оксо-разлагаемые добавки), при этом оксо-разлагаемые добавки при введении в полимер имеют разную скорость деструкции полимерной матрицы (Пономарев и др., 2009; Ершова и др., 2015; Feuilloley et al., 2005).

Оксо-разлагаемые полимерные материалы выделяют в отдельную категорию в отличие от биоразлагаемых полимеров или наполнителей. Это обычный синтетический полимер, модифицированный добавкой для ускорения деструкции полимерной матрицы. Процесс деструкции полимера протекает по свободно-радикальному механизму. При этом период индукции окислительного процесса полимера с добавкой полностью зависит от химической природы самой добавки и ее концентрации в полимере. В конечном итоге процесс деструкции полимера сопровождается молекулярной фрагментацией полимерного материала с образованием низкомолекулярных продуктов (спиртов, альдегидов и кетонов) и остатков полимера. Разложение таких материалов в естественных условиях происходит в два этапа. Первый этап — это процесс окисления, который активируется за счет каталитической добавки, и второй этап — биоразложение. Данные добавки позволяют полимерному материалу фрагментироваться и разрушаться от света, тепла, механических воздействий и влаги. Визуально можно заметить довольно быстрый распад на более мелкие кусочки-фрагменты, так называемые в интернет-сообществе «микропластики», но при этом их молекулярная масса изменяется не более чем на 30 %, в отличие от биоразлагаемых или компостируемых материалов. Такие фрагменты обычно плохо ассимилируются и остаются в окружающей среде на неопределенный срок до полного разрушения (Ершова и др., 2014; Бахаева и др., 2015).<sup>2</sup>

Оксо-биоразлагаемые добавки представляют собой каталитические системы металлов переменной валентности или низкомолекулярные вещества, ускоряющий процесс деструкции полимера. На рынке добавка представлена в виде мастер-батча и обычно включает в себя полимер, как правило, из класса полиолефинов. В полиолефины обычно добавляют добавки на основе кобальта, магния, марганца, цинка, железа или никеля, или их солей. Такие добавки по-разному, но чувствительны к свету, теплу, влаге и механическим воздействиям, при этом инициируется процесс окисления полимерной цепи. Конечным результатом является материал, молекулярная масса которого будет меньше, чем изначально-

<sup>1</sup> Биоразлагаемый полиэтилен: особенности и технология производства. Юнитрейд. <https://unitreid-group.com/poleznoe/biorazlagaemyy-polietilen/>

<sup>2</sup> A straightforward explanation of biodegradable vs. compostable vs. oxo-degradable plastics. In *Green dot Dioplastics*. <https://www.greendotbioplastics.com/biodegradable-vs-compostable-vs-oxo-degradable-plastics-a-straightforward-explanation/>

ная. С течением времени (обычно 9–15 лет) на мелкие фрагменты полимера оказывает воздействие бактерии и грибы, содержащиеся в почве окружающей среды. Известно, что полимер, разлагаясь в окружающей среде и проходя стадии гидролиза, ацетогенеза и метаногенеза, ассимилируется природой при молекулярной массе менее 5 000. При более высокой молекулярной массе полимеры могут покрываться микроорганизмами и довольно большой период времени находиться в состоянии постепенной деструкции, но в любом случае далее разлагается до воды, углекислого газа и биомассы (Балыхин и др., 2021)<sup>3</sup>.

В случае комплексов металлов способность полимера к фоторазрушению зависит от природы металла. Соединения кобальта, никеля, цинка являются эффективными стабилизаторами, разлагающимися гидропероксидами. Соединения на основе марганца тоже способствуют деструкции полимера. Присутствующие в добавке соли переходных металлов создают свободные радикалы, которые, в свою очередь, ведут к появлению спиртов, альдегидов, кетонов, эфиров карбоновых кислот и других низкомолекулярных соединений. Другие комплексы, такие как дитиокарбаматы меди (2<sup>+</sup>) и железа (3<sup>+</sup>), менее устойчивы к действию УФ – лучей и обладают свойствами стабилизаторов или активаторов в зависимости от их концентрации. Возможен подбор концентрации, при которой такие добавки в процессе переработки полимера и в начале облучения действуют как стабилизаторы. По истечении определенного индукционного периода добавки играют роль катализаторов окисления, причем начавшийся процесс деструкции продолжается и в темноте после непосредственного УФ – облучения.

Из соединений металлов переменной валентности наиболее изучены соединения на основе железа. Помимо упомянутых дитиокарбаматов к ним относятся ферроцен и его производные (Роров et al., 2021), оксид железа, коллоидные соединения железа и жирных кислот, а также различные комбинации этих соединений с другими веществами, в том числе и сенсбилизаторами (Быстров и др., 1982).

Многие производители говорят о том, что микропластик, образованный после деструкции полимера, модифицированного окси-добавкой, полностью подвергается разложению под действием микроорганизмов. Проведя независимое исследование в соответствии с международными стандартами, было доказано, что за 350 дней только 15 % полиолефиновой композицией, модифицированной окси-добавкой, биодegradирует в земле до углекислого газа (Feuilloley et al., 2005).

<sup>3</sup> MJS Packaging (May 8, 2014). *What Are Oxo-biodegradable Additives*. <https://www.mjspackaging.com/blog/what-are-oxo-biodegradable-additives/>

Разлагаемый оксо-полимерный материал, если его выбросить в окружающую среду, будет разлагаться до оксигенированных низкомолекулярных цепей (обычно молекулярная масса 5–10 000 а.е.м.) в течение 2–18 месяцев, в зависимости от материала (толщина, антиоксиданты и т.п.), температуры и других факторов окружающей среды. Биодegradация до 91 % была обнаружена в почвенной среде в течение 24 месяцев при тестировании в соответствии с<sup>4</sup> (Jakubowicz et al., 2011). Оксо-деградация была изучена в лаборатории Eurofins в Испании, где 25 июля 2017 г. они отметили 88,9 % биодegradация за 121 день.

Оксо-добавка Reverte производителя Wells Plastics Ltd содержит продеграданты из ионов металла для придания синтетическому полимерному материалу фото- и терморазлагаемость. Такая добавка содержит в себе усилитель биодegradации второго этапа, где используется модификатор скорости реакции для управления иницированием и сроками разложения оксо-разлагаемого материала. При введении оксо-добавки в полимерные пленки деформационно-прочностные характеристики остаются такими же, как и у не модифицированных полиэтиленовых материалов (Бахаева и др., 2015).

Ученые из Японии Синго Одадзима, Нобуюки Ишшики, Хитоши Оцука, Хидетоши Ога, Минору Гото, запатентовали биоразлагаемую восковую композицию, содержащую воск в качестве основного компонента<sup>5</sup> и биоразлагаемую пленку, имеющую биоразлагаемый барьерный слой для влаги между двумя слоями биоразлагаемой смолы<sup>6</sup>.

В 2020 г. на российский рынок была представлена добавка для ускорения разложения полиэтиленовых пленок компанией «Полиматерия». Как сообщал производитель добавки – это воскоподобная смесь предельных углеводородов, получаемая, преимущественно, из нефтепродуктов. Добавка получена механическим смешиванием компонентов в их расплавленном состоянии или смешиванием в эмульсии. Однако исследований влияния данной добавки на физико-химические свойства полиэтиленовых пленок и их способность к биоразло-

<sup>4</sup> ISO 17556: 2019 (International Standard 2019). *Plastics – Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in soil by measuring the oxygen demand in a respirometer or the amount of carbon dioxide evolved. German version EN ISO 17556:2019*.

<sup>5</sup> Patent US-7989522-B2. Shingo, O., Nobuyuki, I., Hitoshi, O., Hidetoshi, O., & Minoru, G. (2011). Biodegradable wax composition. United States.

<sup>6</sup> Patent US-2004227694-A1. Nobuyuki, I., Shingo, O., & Minoru, G. (2003). System and method for a three-dimensional color image display utilizing laser induced fluorescence of nanoparticles and organometallic molecules in a transparent medium. United States.

жению ранее не проводилось. Производитель ссылался на собственные исследования, не указывая опубликованные работы в данном направлении.

В связи с этим цель данного исследования заключается в проведении исследований полимерных пленок, содержащих добавку «Полимерия» (далее добавка) на эксплуатационные характеристики и оценить их способность к биоразложению.

В работе были поставлены следующие задачи:

- (1) получить экспериментальные образцы полиэтиленовых пленок, содержащих добавку;
- (2) провести физико-механические свойства полимерных материалов;
- (3) провести исследования биодegradации образцов методом компостирования, искусственного старения и набухания полимерных пленок.

## МЕТОДЫ

### Материалы исследования

В исследовании в качестве объектов использовали полимерные пленки на основе полиэтилена марки 15803–020 ГОСТ 16337–77 и добавки Полимерия, полученные методом экструзии при температурах переработки полиэтилена 200–220°C. Были использованы 3 типа образцов: 1 тип – контрольные образцы (полиэтиленовые пленки с добавкой) без искусственного старения (контроль), 2 тип – образцы (полиэтиленовые пленки с добавкой), подвергнутые старению при температуре 60°C на воздухе и 3 тип – образцы (полиэтиленовые пленки с добавкой), подвергнутые старению при воздействии ультрафиолета. Содержание добавки в полиэтиленовых пленках составляло 1 % по требованиям технологии производителя.

### Методы исследования

Были использованы следующие методы исследования:

- (1) метод искусственного старения полимерных материалов под воздействие ультрафиолета (УФ) и температуры проводили в соответствии с ГОСТ 12.4.262–2014 «Метод искусственного старения»;
- (2) определение изменения массы при контакте с дистиллированной водой проводили по ГОСТ 4650–2014 «Пластмассы. Методы определения водопоглощения»;
- (3) способность исследуемых композиций к набуханию исследовали по ГОСТ 12020–72 «Методы определения стойкости к действию химических сред»;
- (4) деформационно-прочностные характеристики полимерных композиций исследовали в соответствии

с ГОСТ 14236–81 «Пленки полимерные. Методы испытания на растяжение»;

- (5) для определения срока биоразложения использовали метод компостирования по ASTM D 5988 Стандартный метод испытаний для определения аэробной биодegradации в почве пластичных материалов или остаточных пластичных материалов после компостирования. Метод D: устойчивость к микробной активности почвы и по методу<sup>7</sup>; для оценки динамики биоразложения ПКМ применяли метод компостирования. Образцы помещали в специальные лотки с биогумусом<sup>8</sup> при температуре  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  и влажности  $60 \pm 5\%$ . Степень биоразложения ПКМ определяли по изменению физико-механических свойств в процессе компостирования;
- (6) санитарно-гигиенические свойства водных вытяжек (дистиллированная вода) и вытяжек модельных сред (хлорид натрия) полиэтиленовых пленок органолептическим методом.

Все исследования проводились на кафедре «Промышленный дизайн, технология упаковки и экспертиза», ЦКП «Перспективные упаковочные решения и технологии рециклинга» ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании проведенного анализа литературных данных и представленных результатов собственных испытаний компанией производителем добавки Полимерия на первом этапе исследований полимерные пленки подвергали искусственному старению, используя два метода: УФ облучение и термоокислительное старение при температуре 60°C. В качестве критерия оценки процессов деструкции образцов использовали деформационно-прочностные характеристики полимерного материала при одноосном растяжении. На Рисунке 1 и 2 представлены зависимости физико-механических свойств исследуемых образцов, содержащих добавку от времени искусственного старения при воздействии УФ и температуры.

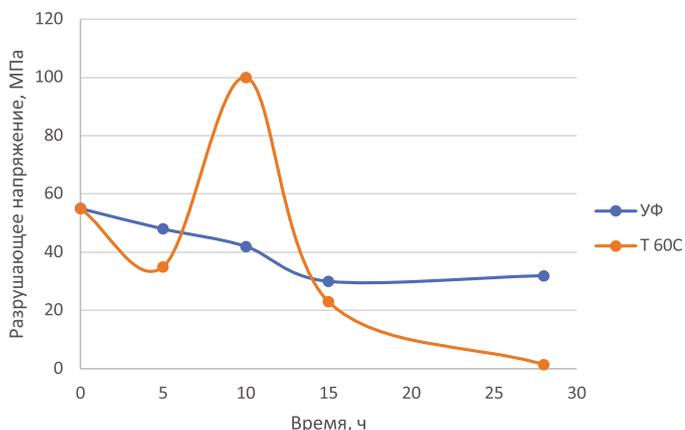
Проанализировав данные, можно отметить, что физико-механические свойства при воздействии УФ-облучения изменяются не так интенсивно, по сравнению с деформационно-прочностными характеристиками

<sup>7</sup> ISO 20200:2015 (2017). *Plastics. Determination of the degree of disintegration of plastic materials under simulated composting conditions in a laboratory-scale test.*

<sup>8</sup> ТУ 0391–001–51540896–2002. (2002). *Грунты торфяные заводского производства для овощных культур: грунт для огурца, грунт для томата и перца, Микропарник – Н, грунт «Садовая земля – Н», грунт для лука «Чиполлино».* АООТ НИИТП.

**Рисунок 1**

Зависимость разрушающего напряжения полимерных материалов от времени старения полиэтиленовых пленок, содержащих добавку. Доверительный интервал составляет 8 %.



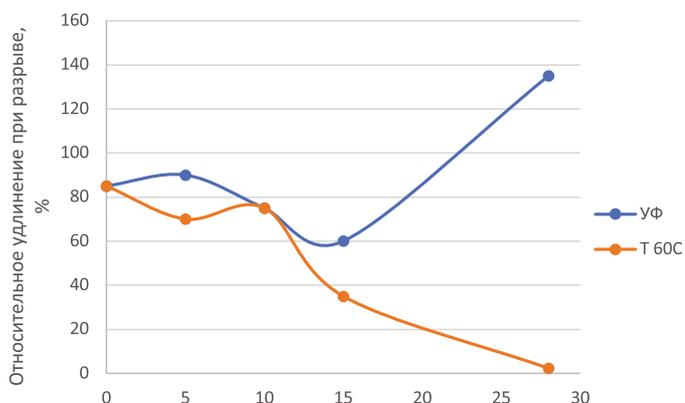
**Рисунок 3**

Внешний вид полимерной пленки после воздействия температуры 60°C 28 часа



**Рисунок 2**

Зависимость относительного удлинения при разрыве полимерных материалов от времени старения полиэтиленовых пленок, содержащих добавку. Доверительный интервал составляет 8 %.



образцов, которые подвергались искусственному старению при температуре. Так, за 28 часов воздействия термоокислительного старения полиэтиленовые пленки полностью разрушились (Рисунок 3), тогда как при воздействии УФ излучения показатели разрушающего напряжения уменьшились в 2 раза, а относительное удлинение при разрыве увеличилось на 50 %.

На следующем этапе проводили исследования санитарно-гигиенических свойств водных вытяжек и вытяжек модельных сред полиэтиленовых пленок органолептическим методом (Таблица 1).

По результатам проведенного эксперимента можно отметить, что после трех недель экспозиции искусственно состаренных образцов в модельной среде (дистиллированная вода) установлен запах: для образцов после термоокислительной деструкции кислый запах, а для

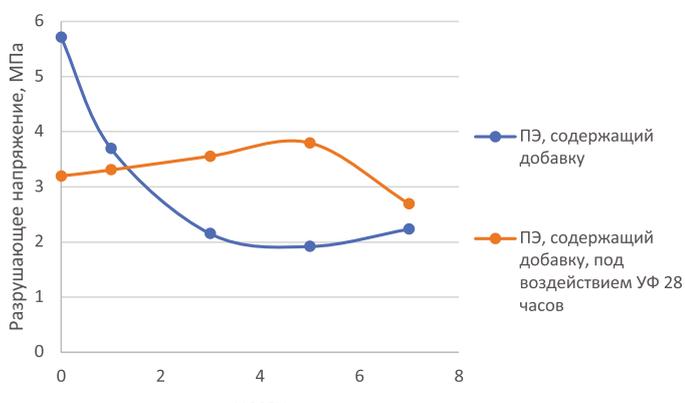
**Таблица 1**

Изменение запаха водных вытяжек полиэтиленовых пленок

Полиэтиленовая пленка с добавкой до или после старения при воздействии УФ или температуры	Модельная среда	Оценка запаха вытяжек после экспозиции в модельной среде, балл		
		7 сут.	21 сут.	28 сут.
Контроль до старения	Дистиллированная вода	1	2,5	2,5
После воздействия уф 28 часов	Дистиллированная вода	1	1	2,5
После воздействия температуры 28 часов	Дистиллированная вода	2	2	3,5
Контроль до старения	Хлорид натрия	1	1	2,5
После воздействия уф 28 часов	Хлорид натрия	2	2	3,5
После воздействия температуры 28 часов	Хлорид натрия	2,5	2,5	4

**Рисунок 4**

Разрушающее напряжение полимерных пленок после помещения в землю



образцов после фотоокислительной деструкции – сладкий запах. Аналогичные исследования проводили для модельной среды хлорида натрия. Определено, что для полиэтиленовых пленок, содержащих добавку, для модельной среды хлорида натрия определялся резкий запах кетоновых соединений – типа «ацетон». В среде хлорида натрия и дистиллированной воде после трех недель экспозиции определяется резкий запах, показатели для всех образцов после трех недель превышают допустимый критерий в 2 балла. Таким образом, такие пленки нельзя использовать для контакта с пищевыми продуктами.

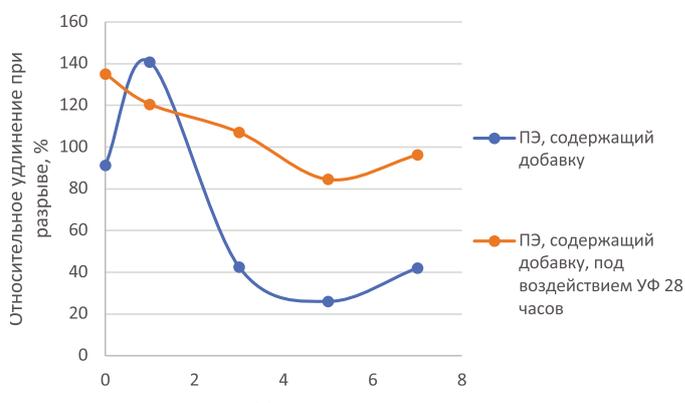
Далее проводили комплексное исследование пленок на способность к биоразложению, используя метод определения водопоглощения, метод определения стойкости к действию химических сред, метод компостирования.

Как показали результаты по водопоглощению в модельных средах (вода и биогумус), полимерные материалы не набухают в жидкой фазе. Это связано с тем, что добавка и полиэтилен одновременно являются гидрофобными веществами.

Поэтому в процессе компостирования образцов ПЭ пленок, содержащих добавку, определялись их деформационно-прочностные характеристики. Образцы после термообработки не исследовали, поскольку невозможно определить их деформационно-прочностные показатели. Образцы пленок разрушились после 28 часов термообработки на воздухе и после помещения в компост они не изменили свой внешний вид. После компостирования в течение 7 месяцев образцы имели вид разрушенных образцов, показанных на Рисунке 3.

**Рисунок 5**

Относительное удлинение при разрыве полимерных пленок после помещения в землю



На Рисунке 4 и 5 представлены зависимости физико-механических свойств исследуемых образцов после помещения в землю в течение 7 месяцев.

Исходя из полученных данных, можно отметить, что деформационно-прочностные характеристики полимерных композиций уменьшились. Относительное удлинение при разрыве образцов на основе ПЭ, содержащей добавку, после воздействия УФ уменьшилось в 1,5 раза, у пленок без воздействия УФ – в 2 раза. Разрушающее напряжение образцов уменьшилось в 2,5 раза по сравнению со значениями для образцов до компостирования. При этом при компостировании 7 месяцев образцы не изменили свои размеры, и их масса тоже не изменилась.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе было проведено исследование влияния добавки «Полиматерия» на способность к биоразложению полиэтиленовых пленок. В результате проведенных испытаний установлено, что физико-механические свойства при воздействии УФ-облучения изменяются не так интенсивно, по сравнению с деформационно-прочностными характеристиками образцов, которые подвергались искусственному старению при температуре 60°C. Установлено, что за 28 часов воздействия термоокислительного старения полиэтиленовые пленки разрушаются и теряют свою целостность.

В процессе компостирования относительное удлинение при разрыве образцов, обработанных УФ, уменьшается в 1,5–2 раза по сравнению со значениями до компостирования. При компостировании 7 месяцев образцы не изменили свои размеры, и их масса тоже не изменилась.

Исследования санитарно-химическим методом позволили определить, что в среде хлорида натрия и дистиллированной воде после трех недель экспозиции полиэтиленовых пленок, содержащих добавку, определяется резкий запах, превышающий критерий в 2 балла. Таким образом, такие пленки нельзя использовать для контакта с пищевыми продуктами.

## ВКЛАД АВТОРОВ:

**Кириш И.А.:** концептуализация, разработка методологии исследования.

**Тверитникова И.С.:** проведение исследования, создание черновика рукописи.

**Безнаева О.В.:** верификация данных.

**Губанова М.И.:** руководство исследованием.

**Банникова О.А.:** курирование данных.

**Чалых Т.И.:** написание-рецензирование и редактирование рукописи.

## ЛИТЕРАТУРА

- Балыхин, М. Г., Кириш, И. А., Губанова, М. И., Банникова, О. А., Безнаева, О. В., Чалых, А. Е., Щербина, А. А., Иорданский, А. Л., Ольхов, А. А., Щетинин, М. П., & Музыка, М. Ю. (2021). *Рециклинг упаковки и биоразлагаемые полимерные материалы: монография*. Проспект.
- Бахаева, А. Н., & Ивановский, С. К. (2015). Обзор оксо-биоразлагаемых добавок используемых для утилизации упаковочных материалов. *Молодой учёный*, 10(90), 156–158.
- Бахаева, А. Н., & Ивановский, С. К. (2015). Оксо-биоразлагаемые полимеры как материал для создания современной упаковки. *Молодой учёный*, 5(85), 122–124.
- Быстров, Г. А., Гальперин, В. М., & Титов, Б. Л. (1982). *Обезвреживание и утилизация отходов пластмасс* (с. 86–97). Химия.
- Ершова, О. В., Бодьян, Л. А., Пономарев, А. П., & Бахаева, А. Н. (2015). Влияние химической деструкции на изменение физико-механических свойств упаковочных полимерных пленок с добавкой d2w. *Современные проблемы науки и образования*, 1, 1981.
- Ершова, О. В., Пономарев, А. П., & Бахаева, А. Н. (2014). Влияние факторов окружающей среды на механические свойства полиэтилена низкого давления с оксо-биоразлагаемой добавкой D2W. *Молодой учёный*, 20, 125–128.
- Пономарев, А. Н., Баранов, С. Х., & Гоготов, И. Н. (2009). Нужны ли России биоразлагаемые полимерные материалы? *Полимерные материалы*, 10, 5–8.
- Faruk, O., Bledzki, A. K., Fink, H., & Sain, M. (2012). Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010. *Progress in Polymer Science*, 37(11), 1552–1596.
- Faruk, O., Bledzki, A. K., Fink, H., & Sain, M. (2014). Progress report on natural fiber reinforced composites. *Macromolecular Materials and Engineering*, 299(1), 9–26.
- Feuilloley, P., César, G., Benguigui, L., Grohens, Y., Pillin, I., Bewa, H., Lefaux, S., & Jamal, M. (2005). Degradation of polyethylene designed for agricultural purposes. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 13, 349–355. <https://doi.org/10.1007/s10924-005-5529-9>
- Jakubowicz, I., Yarahmadi, N., & Arthurson, V. (2011). Kinetics of abiotic and biotic degradability of low-density polyethylene containing prodegradant additives and its effect on the growth of microbial communities. *Polymer Degradation and Stability*, 96(5), 919–928. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2011.01.031>
- Kirsh, I. A., Beznaeva, O. V., Bannikova, O. A., Romanova, V. A., & Barulya, I. V. (2019). Development of biodegradable polymer compositions based on the waste of the agro-industrial complex. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 10(2), 15–23.
- Mihai, B. (2020). Environmental degradation of plastic composites with natural fillers—A Review. *Polymers*, 12(1), 166. <https://doi.org/10.3390/polym12010166>
- Popov, A. A. (2021). Biodegradable polymer compositions based on polyolefins. *Polymer Science, Series A*, 63, 623–636.

## REFERENCES

- Balykhin, M. G., Kirsh, I. A., Gubanova, M. I., Bannikova, O. A., Beznaeva, O. V., Chalykh, A. E., Shcherbina, A. A., Iordansky, A. L., Olkhov, A. A., Shchetinin, M. P., & Muzyka, M. Yu. (2021). *Recikling upakovki i biorazlagaemye polimernye materialy: monografiya* [Packaging recycling and biodegradable polymeric materials: monograph]. Prospekt.
- Bakhaeva, A. N., & Ivanovsky, S. K. (2015). An overview of oxo-biodegradable additives used for the disposal of packaging materials. *Molodoj uchyonyj* [Young Scientist], 10(90), 156–158.
- Bakhaeva, A. N., & Ivanovsky, S. K. (2015). Oxo-biodegradable polymers as a material for creating modern packaging. *Molodoj uchyonyj* [Young Scientist], 5(85), 122–124.
- Bystrov, G. A., Galperin, V. M., & Titov, B. L. (1982). *Obezvrezhivanie i utilizaciya othodov plastmass* [Neutralization and recycling of waste plastics], (pp. 86–97). Himiya.
- Ershova, O. V., Bodyan, L. A., Ponomarev, A. P., & Bakhaeva, A. N. (2015). Influence of chemical destruction on the change in the physical and mechanical properties of packaging polymer films with the addition of d2w. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern problems of science and education], 1, 1981.
- Ershova, O. V., Ponomarev, A. P., & Bakhaeva, A. N. (2014). Influence of environmental factors on the mechanical properties of low-density polyethylene with oxo-biodegradable additive D2W. *Molodoj uchyonyj* [Young Scientist], 20, 125–128.
- Ponomarev, A. N., Baranov, S. Kh., & Gogotov, I. N. (2009). Does Russia need biodegradable polymeric materials? *Polimernye materialy* [Polymer Materials], 10, 5–8.
- Faruk, O., Bledzki, A. K., Fink, H., & Sain M. (2012). Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010. *Progress in Polymer Science*, 37(11), 1552–1596.
- Faruk, O., Bledzki, A. K., Fink, H., & Sain M. (2014). Progress Report on Natural Fiber Reinforced Composites. *Macromolecular Materials and Engineering*, 299(1), 9–26.
- Feuilloley, P., César, G., Benguigui, L., Grohens, Y., Pillin, I., Bewa, H., Lefaux, S., & Jamal, M. (2005). Degradation of Polyethylene Designed for Agricultural Purposes. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 13, 349–355. <https://doi.org/10.1007/s10924-005-5529-9>
- Feuilloley, P., César, G., Benguigui, L., Grohens, Y., Pillin, I., Bewa, H., Lefaux, S. & Jamal, M. (2005). Degradation of Polyethylene Designed for Agricultural Purposes. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 13, 349–355.
- Jakubowicz, I., Yarahmadi, N., & Arthurson, V. (2011). Kinetics of abiotic and biotic degradability of low-density polyethylene containing prodegradant additives and its effect on the growth of microbial communities. *Polymer Degradation and Stability*, 96(5), 919–928. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2011.01.031
- Kirsh, I. A., Beznaeva, O. V., Bannikova, O. A., Romanova, V. A., & Barulya, I. V. (2019). Development of biodegradable polymer compositions based on the waste of the agro-industrial complex. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 10(2), 15–23.
- Mihai, B. (2020). Environmental Degradation of Plastic Composites with Natural Fillers—A Review. *Polymers*, 12(1), 166. <https://doi.org/10.3390/polym12010166>.
- Popov, A. A. (2021). Biodegradable Polymer Compositions Based on Polyolefins. *Polymer Science, Series A*, 63, 623–636.

<https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s160>

УДК 637.03:579.7

# Использование протеолитических свойств биомассы молочнокислых микроорганизмов для создания новых продуктов питания

К.-М. Альхатиб, Т. Н. Данильчук

Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Москва, Россия

**Корреспонденция:**

Данильчук Татьяна Николаевна,  
Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ),  
125080, г. Москва, Волоколамское ш., 11.  
E-mail: danilchuktn@mgupp.ru

**Конфликт интересов:**

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов

**Поступила:** 08.12.2022**Принята:** 28.12.2022**Опубликована:** 30.12.2022**Copyright:** © 2022 Авторы**АННОТАЦИЯ**

**Введение.** Молочнокислые микроорганизмы широко используются в производстве молочнокислых продуктов питания, в том числе и для создания новых продуктов с функциональными свойствами. Способность некоторых видов молочнокислых организмов продуцировать протеолитические ферменты можно использовать и в других пищевых отраслях, в частности в мясной отрасли. Это вопрос в научной литературе изучен недостаточно.

**Цель.** Цель исследования состоит в обосновании целесообразности применения биомассы молочнокислых микроорганизмов – продуцентов протеолитических ферментов для модификации свойств жесткого мясного сыра.

**Материалы и методы.** В работе проведен мониторинг научной литературы по вопросам использования протеолитических ферментов в пищевой отрасли и в производстве кормов для животных, по вопросам влияния различных факторов на свойства ферментов, зависимости качества пищевых продуктов от состояния белкового компонента. Проведены эксперименты по культивированию микроорганизмов – продуцентов протеолитических ферментов и их воздействию на мясное сырье.

**Результаты.** Показана эффективность использования подсырной сыворотки для культивирования консорциума микроорганизмов *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Propionibacterium freudenreichii ssp Shermanii*. Показана эффективность применения полученной биомассы для обработки жесткого мясного сыра.

**Выводы.** В результате такой обработки мясное сырье приобрело улучшенные функционально-технологические свойства (время созревания, влагосвязывающая способность, вододерживающая способность, предельное напряжение сдвига, текстура и цвет мяса), что позволяет использовать модифицированное сырье для выработки новых мясных продуктов с хорошими потребительскими свойствами (вкус, аромат, нежность мясного продукта, усвояемость белка). Кроме того, протеолитические ферменты являются защитным фактором от многих неблагоприятных микроорганизмов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА**

молочнокислые микроорганизмы, протеолитическая активность, модификация свойств мясного сыра



**Для цитирования:** Альхатиб, М. К., & Данильчук, Т. Н. (2022). Использование протеолитических свойств биомассы молочнокислых микроорганизмов для создания новых продуктов питания. *Health, Food & Biotechnology*, 4(4), 65–77. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s160>

<https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s160>

# The Use of the Proteolytic Properties of the Biomass of Lactic Acid Microorganisms for the New Food Products Creation

Kamal-M. Alkhateeb, Tatyana N. Danilchuk

Russian Biotechnological University  
(BIOTECH University), Moscow, Russia

**Correspondence:**

**Tatyana N. Danilchuk,**  
Russian Biotechnological University  
(BIOTECH University),  
11, Volokolamskoe sh., Moscow,  
125080, Russia.  
E-mail: danilchuktn@mgupp.ru

**Declaration of competing interest:**  
none declared.

**Received:** 08.12.2022  
**Accepted:** 28.12.2022  
**Published:** 30.12.2022

**Copyright:** © 2022 The Authors

## ABSTRACT

**Introduction.** Lactic acid microorganisms are widely used in the production of lactic acid foods, including for the creation of new products with functional properties. The ability of some types of lactic acid organisms to produce proteolytic enzymes can be used in other food industries, in particular in the meat industry. This issue has not been studied enough in the scientific literature.

**Purpose.** The purpose of this work is to substantiate the feasibility of using biomass of lactic acid microorganisms – producers of proteolytic enzymes to modify the properties of hard meat raw materials.

**Materials and Methods.** The paper monitors the scientific literature on the use of proteolytic enzymes in the food industry and in the production of animal feed, on the influence of various factors on the properties of enzymes, the dependence of food quality on the state of the protein component. Experiments were carried out on the cultivation of microorganisms – producers of proteolytic enzymes and their effect on meat raw materials.

**Results.** The efficiency of using subsurface serum for the cultivation of a consortium of microorganisms is shown. The efficiency of using the obtained biomass for processing hard meat raw materials is shown.

**Conclusion.** As a result of such processing, meat raw materials have acquired improved functional and technological properties (maturation time, moisture binding ability, water retention ability, shear stress limit, texture, and color of meat), which allows the use of modified raw materials for the production of new meat products with good consumer properties (taste, aroma, tenderness of meat product, protein digestibility). In addition, proteolytic enzymes are a protective factor against many unfavorable microorganisms.

## KEYWORDS

lactic acid microorganisms, proteolytic activity, modification of the properties of meat raw materials



**To cite:** Alkhateeb, M. K., & Danilchuk, T. N. (2022). The Use of the Proteolytic Properties of the Biomass of Lactic Acid Microorganisms for the New Food Products Creation. *Health, Food & Biotechnology*, 4(4), 65–77. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i4.s160>

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время большое внимание в научной литературе уделяется вопросам создания новых полезных пищевых продуктов, что обусловлено увеличением спроса на продукты питания для здорового образа жизни. В условиях развития рынка актуальным является расширение ассортимента таких продуктов, в том числе функциональной направленности, для обеспечения возрастающих потребностей населения. Среди этих продуктов особое место занимают молочнокислые продукты, как традиционные, полученные с использованием заквасок на основе различных форм бифидобактерий, лактобактерий, пропионовокислых бактерий или на основе различных комбинаций бактерий и грибов (Шендеров, 2018), так и новые, полученные с использованием различных добавок и наполнителей. Комбинирование молочного сырья с ингредиентами растительного происхождения придает новым продуктам дополнительную функциональную направленность и улучшает их пищевую ценность, дает возможность создавать продукты с заданными свойствами (Данильчук, 2020; Бисенгалиев, 2016; Venegas-Ortega, 2019).

В последние годы среди потребителей увеличивается популярность продуктов, содержащих как живые бактерии, так и их метаболиты после ферментации молока определенными штаммами микроорганизмов.

К настоящему времени систематизированы статистические данные и данные научной литературы, подтверждающие, что регулярное употребление в пищу кисломолочных продуктов повышает иммунный статус организма, понижает вероятность возникновения онкологических заболеваний из-за способности молочнокислых микроорганизмов угнетать рост патогенной микрофлоры и нормализовать кишечную микрофлору, усиливать перистальтику кишечника, увеличивать усвояемость молочного белка и лактозы (Шендеров, 2018).

Молочнокислые микроорганизмы используются в переработке сельскохозяйственного сырья: овощей, фруктов, кормовых культур, предназначенных для силосования. При заготовке растительных кормов используется способность молочнокислых бактерий продуцировать бактериоцины. Молочнокислые бактерии вносят в определенном количестве в силосуемую массу происходит активизация молочнокислого брожения, что приводит к подкислению силосуемой массы и к подавлению маслянокислого брожения, роста дрожжей и грибов (Бирюк, 2021). Актуальной задачей в этом направлении является исследование свойств различных консорциумов микроорганизмов, для получения силоса, более эффективно усвояемого животными и обогащенного аминокислотами и витаминами (Каблова, 2015). Биологическое консервирование овощей и фруктов происходит по тому же

принципу, что и силосование корма. Углеводы растений под воздействием молочнокислых бактерий превращаются в молочную и уксусную кислоты, которые в сочетании с низкими значениями pH являются естественными консервантами (Посокина, 2018). Молочнокислому брожению подвергают капусту, морковь, огурцы, зеленые томаты, листовые овощи, зелень и оливки. Бобовые культуры также заготавливают с использованием процессов брожения, при этом применение в закваске молочнокислых микроорганизмов позволяет придать продукту специфические вкус, аромат и консистенцию (Царева, 2014).

Лактобактерии родов *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* используются в производстве вин. Эти микроорганизмы обеспечивают брожение сырья по яблочно-молочному типу в высококислотных винах. Особенностью их действия является сбраживание яблочной кислоты и инертность к другим химическим компонентам вина. Однако некоторые виды лактобактерий могут испортить вино, вызвав только молочнокислое брожение, что приводит к разложению винной кислоты и прогорканию (Агеева, 2018).

Молочнокислые микроорганизмы совместно со стафилококками, дрожжами и мицелиальными грибами входят в состав стартовых культур микроорганизмов, которые применяются при производстве мясных продуктов для ферментативного преобразования структуры сырья, формирования специфического аромата и стабильной окраски. К основным технологическим свойствам стартовых культур можно отнести сбраживание углеводов с образованием молочной кислоты, что обеспечивается жизнедеятельностью молочнокислых микроорганизмов. Особенно актуальным является подбор стартовых культур, способных размягчать мясное сырье низких сортов. Например, использование консорциума микроорганизмов *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium siccum*, *Staphylococcus carnosus*, *Lactobacillus plantarum* позволяет ускорить производство сырокопченых колбас и получать высококачественные продукты из малоценного мясного сырья (Нестеренко, 2014).

Значимость применения молочнокислых бактерий в производстве новых продуктов питания обусловлена их безопасностью для человека и животных (общепризнанными безопасными – GRAS) и благотворным влиянием на здоровье человека (Othman, 2017; Zielinska, 2018; Kavitate, 2018; Chlebowska-Smigiel, 2019; Никифорова, 2022)

В создании новых продуктов питания с использованием молочнокислых микроорганизмов важно учитывать не только их способность сбраживать сахара в молочную кислоту, но и их протеолитический потенциал. В частности, протеолитические ферменты как продукты жизне-

деятельности микроорганизмов используются в мясной отрасли для модификации свойств мясного сырья в целях повышения его нежности и степени гидратации, улучшения качества полученных из модифицированного сырья мясных продуктов.

Спрос в пищевых производствах на протеолитические ферменты постоянно растет, что обуславливает развитие научного направления по выявлению новых живых организмов – продуцентов протеолитических ферментов (Razzaq, 2019; Sharma, 2019). В научной литературе возрастает количество исследований активности, физиологической функции протеолитической системы молочнокислых бактерий и способов ее регуляции (Sun, 2019, 2020; García-Cano, 2019; Matti, 2019). Однако использование протеолитического потенциала молочнокислых микроорганизмов для создания новых мясных продуктов в научной литературе обсуждается не столь широко, в отличие от аналогичного аспекта в создании новых молочных продуктов.

Протеолитическая система молочнокислых бактерий реализует их особые физиологические свойства, связанные с утилизацией казеина в молоке, что обеспечивает клетки бактерий незаменимыми аминокислотами в процессе их роста. Протеолитические ферменты молочнокислых бактерий представлены протеиназами, пептидазами и специфическими транспортными белками. Протеиназы расщепляют казеин на пептиды, которые затем расщепляются внутриклеточными пептидазами до более мелких пептидов и аминокислот. Транспортные системы осуществляют перенос аминокислот и пептидов через цитоплазматическую мембрану (Kennu, 2003). Механизмы поддержания через клеточный протеолиз уровня регуляторных белков или их удаления определяют органолептические свойства кисломолочных продуктов (Savijoki, 2006). Например, горькие пептиды, образующиеся при протеолизе казеина, ухудшают органолептические показатели молочных продуктов, придавая им горький вкус (Zhao, 2016).

Молочнокислые бактерии могут продуцировать протеолитические ферменты как внутри клетки, так и во внешней среде. Протеолитические ферменты используются не только для гидролиза белков, но и для коагуляции молочных белков, например в сыроделии. Оптимальный pH для развития и роста протеолитических бактерий в молоке составляет 7–7,5 (Worsztynowicz, 2020; Ji, 2021; Linares-Morales, 2020). Способность разлагать молочные белки наблюдается у бацилл и у молочнокислых стрептококков, хотя и в меньшей степени, чем у типичных протеолитических бактерий, таких как *Proteus*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Clostridium* и некоторых штаммов *Micrococcus* (Cichosz, 2006). Протеолитический потенциал термофильных видов лактобацилл более высокий, чем у палочек или стрептококков.

Наиболее протеолитически активными видами лактобацилл являются *Lactocaseibacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. болгарicus*, *Lactocaseibacillus helveticus* и *Lactocaseibacillus acidophilus*, а наименее активным видом является *Lactiplantibacillus plantarum*. Среди кокков наиболее активны виды *Lactococcus salivarius subsp. thermophilus* (ранее называвшийся *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*) и *Lactococcus* лактис подвид *cremonis*, а наименее активным является *Lactococcus* лактис подвид лактис. В целом активность палочек больше, чем у молочнокислых стрептококков (Saidi, 2020; Toe, 2019; Lim, 2019; Wa'isko, 2012).

Микробные культуры, имеющие богатый набор ферментов, включая и протеолитические, широко используются при производстве кисломолочных продуктов (сыра, йогурта, кефира и других) и легкоусвояемых молочных продуктов для больных детей. Из молока с помощью протеолитических ферментов получают различные белковые гидролизаты (Razzaq, 2019; Abada, 2018; Worsztynowicz, 2019; Munir, 2019; Ozturkoglu-Budak, 2016)

Некоторые микробные протеазы, продуцируемые молочнокислыми бактериями, могут заменить химозин в производстве сыра (Dos Santos Aguilar, 2018). Кроме того, молочнокислые бактерии, например *Enterococcus faecalis VB43*, могут продуцировать ферменты, способные гидролизовать аллергенные белки в молоке, поэтому они имеют хороший потенциал для производства гипоаллергенных молочных продуктов (Biscola, 2018). *Enterococcus faecalis* способна продуцировать также активную протеазу, что указывает на возможность ее применения для поддержки расщепления и высвобождения биоактивных пептидов из сывороточного белка (Worsztynowicz, 2019).

В производстве хлеба и макарон протеолитические ферменты в сильной степени влияют на реологические свойства теста, что обуславливает качество готового продукта. Протеолитический потенциал молочнокислых бактерий в закваске способствуют улучшению процесса выпечки теста, улучшает вкус и аромат хлеба, продлевает срок его хранения и способствует повышению поднимемости дрожжевого теста (Mamo, 2018; Scarnato, 2017; Mohan Kumar, 2019; Moghaddam, 2020; Sarabhai, 2020).

Биомассу молочнокислых микроорганизмов, способную продуцировать протеолитические ферменты, можно использовать для обработки мясного сырья в целях изменения его функционально технологических свойств.

В мясе под влиянием ферментов, обладающих протеолитической активностью, происходит биотрансформация мышечных белков и белков соединительной ткани, приводящая к увеличению реакционной способности сульфгидрильных, гидроксильных и карбоксильных

и аминокислот. В результате сокращается время созревания мяса, оно становится более нежным, повышается степень гидратации и усвояемость белков мяса, увеличивается содержание растворимых и свободных аминокислот и малых пептидов, что улучшает вкусовые качества мяса. Протеолитические ферменты влияют на правильную текстуру, аромат и цвет мяса (Ahmad, 2019; Da Silva, 2017; Singh, 2019; Arshad, 2016; Krasnowska, 2004). Кроме улучшения функционально-технологических и органолептических свойств воздействие протеолитических ферментов является защитным фактором от многих неблагоприятных микроорганизмов и окисления липидов (Lorenzo, 2018).

Эксперименты по изучению влияния добавок кисло-молочного продукта «Кефинар» на динамику функционально-технологических свойств мясного сырья и пищевую ценность деликатесных мясных изделий (Меренкова С.П., 2015) показали, что добавки этого продукта в количестве 40–48 % от объема рассола приводили к увеличению на 34,51–36,80 % водосвязывающей способности мясного сырья и увеличению гидрофильности мышечной ткани. Были проведены модельные эксперименты по производству копчено-вареных изделий из свинины. В процессе созревания мяса в результате накопления биомассы молочнокислых микроорганизмов наблюдали более выраженный, чем в контроле, сдвиг уровня pH в кислую сторону, что важно в производстве копчено-вареных и сырокопченых колбас. Это способствовало подавлению жизнедеятельности патогенной микрофлоры и диссимиляции нитрита натрия. В результате метаболических процессов симбиотического продукта «Кефинар», содержащего классические кефирные бактерии и пробиотические кислотоустойчивые штаммы ацидофильных бактерий «НаринэТНСи», в опытных образцах происходит накопление карбоната белка, витаминов группы В, а также снижение концентрации остаточного нитрита натрия.

Культивирование некоторых молочнокислых микроорганизмов на различных питательных средах показало, что *Lactobacillus plantarum* и *Bifidobacterium siccum* растут на модельном фарше из говядины жилованной второго сорта. В результате культивирования происходит накопление молочной кислоты и расщепление белков коллагена, а также накопление свободных белков и полипептидов. К 24 часам культивирования *Lactobacillus plantarum* наблюдали снижение pH модельного фарша на 19 %, накопление количества молочной кислоты до 27 мг %. К 24 часам культивирования *Bifidobacterium siccum* наблюдали снижение pH модельного фарша на 14 %, накопление количества молочной кислоты до 20 мг %. Степень гидролиза белков при этом для *Lactobacillus plantarum* составила 17 %, а для *Bifidobacterium siccum* – 13 % (Нестеренко А.А., 2014).

Молочнокислые микроорганизмы вида *Lactobacillus sakei* способны осуществлять свою жизнедеятельность в мясном и рыбном сырье и развиваться при низких положительных температурах (Zagorec M., 2017). Кроме того, эти штаммы хорошо переносят высокие концентрации соли (до 10 %), особенно штамм *Latilactobacillus sakei* LSK-45 (Никифорова А.П., 2021).

Цель настоящей работы: обоснование целесообразности применения биомассы молочнокислых микроорганизмов – продуцентов протеолитических ферментов для модификации свойств жесткого мясного сырья.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Разработать способ модификации свойств мясного сырья с использованием биомассы консорциума микроорганизмов.
2. Исследовать структурно-механические свойства мясного сырья до и после модификации.
3. Исследовать структурно-механические и органолептические свойства образцов готовых продуктов.

## МЕТОДЫ

### Материалы

В качестве объектов исследования были выбраны микроорганизмы *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Propionibacterium freudenreichii* ssp *Shermanii*, входящие в состав закваски «Эвиталия» (изготовитель ООО «НПФ Пробиотика»), и филе бедра индейки.

Для культивирования консорциума микроорганизмов использовали молоко жирностью 3.2 % и подсырную сыворотку.

### Методы исследования

Протеолитическую активность исследовали с использованием метода Ансона<sup>1</sup>. Скорость ферментативной реакции определяли по количеству тирозина, образовавшегося после гидролиза белка казеината натрия. Количество тирозина определяли по колориметрической реакции с реактивом Фолина. Интенсивность образовавшейся окраски измеряли на колориметре фотоэлектрическом концентрационном марки КФК-2.

Для определения показателя pH использовали pH метр марки pH-410 со стеклянным электродом, заполненным

<sup>1</sup> ГОСТ 20264.2–88. (1989). Препараты ферментные. Методы определения протеолитической активности.

0,1 М раствором соляной кислоты и хлорсеребряным электродом сравнения, который содержит насыщенный раствор хлорида калия<sup>2</sup>.

Водосвязывающую способность (ВСС) оценивали по методу Грау в модификации ВНИИМП, который основан на расчете количества свободной и слабосвязанной влаги, выделяющейся из образца при легком его пресовании.

Влагоудерживающую способность (ВУС) определяли по массе выделившейся влаги в процессе нагревания образца на водяной бане при температуре кипения воды с использованием молочного жиромера.

Структурно-механические свойства образцов исследовали методом пенетрации с использованием пенетрометра ПМДП конусообразной формы.

Анализ органолептических свойств готовых продуктов проводили в соответствии с ГОСТ 9959<sup>3</sup>. Оценивали внешний вид, цвет, запах (аромат), консистенцию, сочность.

## Процедура исследования

Культивирование консорциума микроорганизмов осуществляли следующим образом: 50 мл питательной среды (пастеризованного молока или сыворотки) нагревали на водяной бане до 40°C, добавляли 150 мг смеси лиофильно высушенных штаммов *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Propionibacterium freudenreichii ssp Shermanii*; подготовленную таким образом закваску вносили в основную массу теплой среды (40–43 °C); далее тщательно перемешивали и выдерживали в термостате 3 часа при 40°C, затем остужали.

Проведены:

- (1) сравнительный анализ протеолитической активности полученной биомассы после культивирования молока и подсырной сыворотке;
- (2) модельные эксперименты по обработке мясного сырья биомассой микроорганизмов;
- (3) исследования физико-химических и структурно-механических свойств исходного и модифицированного сырья;

(4) роведена сравнительная оценка функционально-технологических и органолептических показателей готовых продуктов.

В результате эксперимента предложен способ модификации свойств мясного сырья с использованием биомассы консорциума лактобактерий, пропионовокислых бактерий и стрептококков.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По данным производителя закваска «Эвиталия» содержит лиофилизированные, но способные размножаться в питательной среде штаммы молочнокислых микроорганизмов, фолиевую кислоту, макро и микроэлементы, продуценты витаминов (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, А, Е, С). Входящие в состав закваски микроорганизмы способны сбраживать углеводы питательной среды без образования газа, при этом происходит биосинтез кислот, которые подавляют рост гнилостных и условно патогенных микробов. В 150 мг «Эвиталия» содержится  $2 \cdot 10^9$  КОЕ (т.е. 2 миллиарда живых микроорганизмов). Для получения молочнокислого продукта рекомендуется культивировать закваску «Эвиталия», представляющую собой консорциум микроорганизмов *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Propionibacterium freudenreichii ssp Shermanii* в теплом молоке. Подсырная сыворотка тоже может служить хорошей питательной средой для размножения указанных микроорганизмов.

Как и в молоке, основным углеводом подсырной сыворотки является лактоза, присутствуют также моносахариды (глюкоза, галактоза и др.) и следы олигосахаридов. Сывороточные белки (β-лактоглобулин, α-лактоальбумин, альбумин сыворотки крови, иммуноглобулины, протеозопептоны, казеиновая пыль) содержат все незаменимые аминокислоты. Доля азотсодержащих веществ в подсырной сыворотке составляет 0,5–1,1 мас.%, а сухих веществ – 4%. В сыворотке присутствуют витамины, микро и макроэлементы. Необходимо отметить, что кислотность подсырной сыворотки значительно выше, чем у молока: титруемая кислотность сыворотки находится в пределах 60 °Т, в то время как у молока 21 °Т. Кроме того, подсырная сыворотка содержит большое количество молочнокислых пробиотических бактерий (Кригер, 2016; Раимбеков, 2018).

В настоящей работе основным аспектом культивирования консорциума микроорганизмов *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Propionibacterium freudenreichii ssp Shermanii* являлось выявление протеолитических свойств выращенной биомассы. Результаты экспериментов представлены в Таблице 1.

<sup>2</sup> ГОСТ 32169–2013. (2019). Метод определения водородного показателя и свободной кислотности. Стандартинформ.

<sup>3</sup> ГОСТ 9959. (2010). Продукты мясные. Органолептический метод определения показателей качества. Стандартинформ.

**Таблица 1**

*Протеолитическая активность биомассы, выращенной на разных питательных средах*

ПА, усл.ед/мл	
Питательная среда	
Молоко, жирность 3,2 %	Подсырная сыворотка
177	180

Из таблицы видно, что биомасса обладает протеолитической активностью (ПА), хотя ПА молочнокислых организмов значительно ниже, чем у сычужных ферментов<sup>4</sup>. Активность протеолитических ферментов, вырабатываемых консорциумом микроорганизмов, несколько выше при культивировании в подсырной сыворотке, что возможно связано с повышенной кислотностью сыворотки.

Наличие протеолитических ферментов в биомассе консорциума позволяет использовать ее для обработки мясного сырья с повышенным содержанием соединительной ткани. Нами были проведены модельные эксперименты по обработке мяса бедра индейки биомассой микроорганизмов консорциума, выращенных на молоке. Филе бедра индейки заливали биомассой так, чтобы кусок мяса был полностью покрыт жидкостью и выдерживали при температуре 5 °С в течение 17 ч. В тех же условиях находился контрольный образец, представлявший не подвергнутый обработке кусок мяса в лотке. Проведена оценка внешнего вида и предельного напряжения сдвига (ПНС) и ВСС исследованных образцов. Результаты приведены в Таблице 2.

**Таблица 2**

*Функционально-технологические и структурно-механические свойства образцов мяса бедра индейки*

Образец	Внешний вид	Наименование показателя	
		ПНС, кПа	ВСС, %
Контроль	Цвет насыщенный красный, волокна плотно прилегают друг к другу, фасции тяжело отделяются от мышечной ткани	2,36	68,6
Опыт	Цвет кремовато-розовый, наблюдается разрыхление волокон, фасции легко отделяются от мышечной ткани	1,35	71,1

<sup>4</sup> ГОСТ ISO 15163. Молоко и молочные продукты. Сычужный фермент из сычугов телят и ферментный препарат из сычугов крупного рогатого скота. Стандартиформ, 2015.

Таким образом, даже визуально видны значительные изменения структуры волокон мышечной ткани мяса бедра индейки, что подтверждается измерениями ПНС. ПНС мяса понижается в 1,75 раза после выдерживания его в жидкой биомассе консорциума микроорганизмов *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Propionibacterium freudenreichii ssp Shermanii*. Эти изменения структурно-механических свойств аналогичны наблюдавшимся нами ранее при обработке мяса голени индейки с использованием раствора препарата «Пепсин свиной» (Данильчук, 2019).

Контрольный образец и опытный образец были подвергнуты термической обработке (варка в течение 40 мин). Исследованы структурно-механические, органолептические и функционально-технологические свойства готовых продуктов. Результаты исследований приведены в Таблицах 3 и 4.

**Таблица 3**

*Функционально-технологические и структурно-механические свойства образцов мяса бедра индейки после термической обработки*

Образец	Внешний вид	ПНС, кПа	ВУС, %
Контроль	Цвет светло-коричневый, структура плотная	26,62	23,1
Опыт	Цвет светло-кремовый, структура рыхлая	13,57	28,3

**Таблица 4**

*Органолептические свойства образцов мяса бедра индейки после варки*

Образец	Наименование показателя			
	Консистенция	Аромат	Вкус	Сочность
Контроль	Жесткая, трудно разжевывать	Запах вареного мяса, характерный для этого вида птицы	Ярко вы-раженный, характерный для этого вида птицы	Практически отсутствует
Опыт	Более мягкая, легко разжевывать	Варёное мясо без побочных запахов	Вкус, характерный для этого вида птицы, без посторонних привкусов	Более сочная

В результате проведенных экспериментов показано, что из мяса бедра индейки, модифицированного обработкой жидкой биомассой консорциума микроорганиз-

мов *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Propionibacterium freudenreichii* ssp *Shermanii*, получается продукт, имеющий более нежную структуру, улучшенные органолептические свойства и повышенные потребительские качества.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Высокая пробиотическая активность молочнокислых микроорганизмов в сочетании с их протеолитической активностью позволяет сделать вывод о перспективности их широкого использования в пищевой и перерабатывающей промышленности, в биотехнологии и проэкологических технологиях. В частности, ферментативные свойства бактерий можно эффективно применять для создания новых продуктов питания, что является одним

из важнейших направлений в производстве пищевых продуктов. Использование подсырной сыворотки для культивирования микроорганизмов и их консорциумов — важный и актуальный аспект решения проблем дефицита сырья богатого белком и использования вторичного молочного сырья.

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Альхатиб К.-М.:** Верификация данных, проведение исследований, создание черновика рукописи, визуализация.

**Данильчук Т.Н.:** Концептуализация, методология, создание рукописи и ее редактирование, руководство исследованием.

## ЛИТЕРАТУРА

- Агеева, Н. М., Прах, А. В., Насонов, А. И., & Супрун, И. И. (2018). Исследование технологических свойств новых штаммов винных дрожжей, выделенных их спонтанной микрофлоры винограда. *Плодоводство и виноградарство Юга России*, 52(04), 110–122. <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2018-4-52-110-122>
- Бисенгалиев, Р. М., Садыков, Р. С., & Акбатырова, Э. Т. (2016). Пробиотики и пребиотики как основа функционального питания. *Молодой ученый*, 8(112), 185–188. <https://moluch.ru/archive/112/28356/>
- Бирюк, Е. Н., Фурик, Н. Н., Ходаренок, Е. П., & Сидерко, И. А. (2021). Разработка сухого биоконсерванта на основе гетероферментативных молочнокислых бактерий. *Корма и кормоводство*, 4(56), 63–66.
- Данильчук, Т. Н., Ефремова Ю. Г., & Корыстина, И. В. (2020). Напитки на основе молочной сыворотки и сублиматов проростков растений. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (3), 69–79. <https://doi.org/10.36107/spfr.2020.305>
- Данильчук, Т. Н., Абдрашитова, Г. Г., Русалиева, Д. А., & Григорьева, С. А. (2019). Нетрадиционные подходы к переработке мяса птицы. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (1), 35–43.
- Каблова, М. А., Шурхно, Р. А., & Сироткин, А. С. (2015). Молочнокислые бактерии в сельскохозяйственном производстве. *Вестник Казанского технологического университета*, 8(23), 145–149.
- Кригер, А. В., & Стурова, Ю. Г. (2016). Использование подсырной сыворотки для производства витаминных напитков как фактор повышения конкурентноспособности предприятия. *Ползуновский вестник*, (3), 18–22.
- Меренкова, С. П., Потороко, И. Ю., Захаров, И. В., & Байбаков, В. И. (2015). Перспективы использования пробиотических микроорганизмов в технологии цельномышечных изделий. *Техника и технология пищевых производств*, (1), 47–53.
- Нестеренко, А. А., & Шхалахов, Д. С. (2014). Применение консорциумов микроорганизмов для обработки мясного сырья в технологии колбасного производства. *Молодой ученый*, 13(72), 71–75.
- Никифорова, А. П., & Хамагаева, И. С. (2022). Изучение биотехнологического потенциала штамма *Lactobacillus sakei* LSK-103. *Вестник МГТУ*, 24(3), 277–286.
- Никифорова, А. П., Хазагаева, С. Н., & Хамагаева, И. С. (2021). Исследование устойчивости *Lactobacillus sakei* к осмотическому стрессу. *Техника и технология пищевых производств*, 51(3), 574–583.
- Посокина, О. Ю., Лялина, А. И., Захарова, А. И., Шишлова, Е. С., & Терешок, В. И. (2018). Научно-обоснованные подходы к процессу ферментации овощей и преимуществ использования бактериальных заквасочных культур. *Овощи России*, 43(5), 77–80.
- Раимбеков, А. З., Атхамова, С. К., & Додаев, К. О. (2018). Использование сывороточного белка в детском питании. *Universum: Технические науки*, 4(49).
- Царева, Н. И., & Артемова, Е. Н. (2014). *Бобовые в технологии продуктов питания со взбивной структурой*. Госуниверситет — УНПК.
- Шендеров, Б. А., Захарченко, М. М., & Сеница, А. В. (2018). Приемы и технологии восстановления нарушений пищевого поведения и дисбаланса питания у современного человека. *Донozoология и здоровый образ жизни*, 1(22), 76–88.

- Abada, E. A. (2019). Application of microbial enzymes in the dairy industry. In *Enzymes in food biotechnology*, (pp. 61–72).
- Ahmad, M. N., Mat Noh, N. A., Abdullah, E. N., Yarmo, M. A., Mat Piah, M. B., & Ku Bulat, K. H. (2019). Optimization of a protease extraction using a statistical approach for the production of an alternative meat tenderizer from *Spondias cytherea* roots. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(11), e14192. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14192>
- Arshad, M. S., Kwon, J. H., Imran, M., Sohaib, M., Aslam, A., Nawaz, I., Amjad, Z., Khan, U. & Javed, M. (2016). Plant and bacterial proteases: A key towards improving meat tenderization, a mini review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1261780.
- Biscola, V., Choiset, Y., Rabesona, H., Chobert, J. M., Haertlé, T., & Franco, B. D. G. M. (2018). Brazilian artisanal ripened cheeses as sources of proteolytic lactic acid bacteria capable of reducing cow milk allergy. *Journal of Applied Microbiology*, 125(2), 564–574. <https://doi.org/10.1111/jam.13779>
- Bos Santos Aguilar, J. G., & Sato, H. H. (2018). Microbial proteases: production and application in obtaining protein hydrolysates. *Food Research International*, 103, 253–262. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.044>
- Cichosz, G., Kornacki, M., Giczewska, M. A. R. T. A., & Konopka, A. (2006). Aktywnosc peptydazowa wybranych szczepow *Lactobacillus*. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 13(1), 66–74.
- Chlebowska-Śmigiel, A., Kycia, K., Neffe-Skocińska, K., Kieliszek, M., Gniewosz, M., & Kołożyn-Krajewska, D. (2019). Effect of pullulan on physicochemical, microbiological, and sensory quality of yogurts. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 20(6), 489–496. <https://doi.org/10.2174/1389201020666190416151129>
- Da Silva, R. R. (2017). Bacterial and fungal proteolytic enzymes: production, catalysis and potential applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 183(1), 1–19. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2427-2>
- García-Cano, I., Rocha-Mendoza, D., Ortega-Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E., & Jiménez-Flores, R. (2019). Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(13), 5243–5257. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09844-6>
- Ji, D., Ma, J., Xu, M., & Agyei, D. (2021). Cell-envelope proteinases from lactic acid bacteria: Biochemical features and biotechnological applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 369–400. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12676>
- Kavitake, D., Kandasamy, S., Devi, P. B., & Shetty, P. H. (2018). Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods—A review. *Food Bioscience*, 21, 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.11.003>
- Kenny, O., FitzGerald, R. J., O'cuinn, G., Beresford, T., & Jordan, K. (2003). Growth phase and growth medium effects on the peptidase activities of *Lactobacillus helveticus*. *International Dairy Journal*, 13(7), 509–516. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(03\)00073-6](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(03)00073-6)
- Krasnowska, G. (2004). Próba wykorzystania enzymów pochodzenia mikrobiologicznego do degradacji surowców zwierzęcych bogatych w tkankę łączną. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 11(1), 84–93.
- Kumar, B. M., Sarabhai, S., & Prabhasankar, P. (2019). Targeted degradation of gluten proteins in wheat flour by prolyl endoprotease and its utilization in low immunogenic pasta for gluten sensitivity population. *Journal of Cereal Science*, 87, 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.03.001>
- Lim, Y. H., Foo, H. L., Loh, T. C., Mohamad, R., & Abdullah, N. (2019). Comparative studies of versatile extracellular proteolytic activities of lactic acid bacteria and their potential for extracellular amino acid productions as feed supplements. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0323-z>
- Linares-Morales, J. R., Cuellar-Nevárez, G. E., Rivera-Chavira, B. E., Gutiérrez-Méndez, N., Pérez-Vega, S. B., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2020). Selection of lactic acid bacteria isolated from fresh fruits and vegetables based on their antimicrobial and enzymatic activities. *Foods*, 9(10), 1399. <https://doi.org/10.3390/foods9101399>
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Gomez, B., Barba, F. J., Mora, L., Perez-Santaescolastica, C., & Toldra, F. (2018). Bioactive peptides as natural antioxidants in food products—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 79, 136–147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.003>
- Mamo, J., & Assefa, F. (2018). The role of microbial aspartic protease enzyme in food and beverage industries. *Journal of Food Quality*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7957269>
- Matti, A., Utami, T., Hidayat, C., & S. Rahayu, E. (2019). Isolation, Screening, and identification of proteolytic lactic acid bacteria from indigenous Chao product. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 28(7), 781–793. <https://doi.org/10.1080/10498850.2019.1639872>
- Munir, M., Nadeem, M., Qureshi, T. M., Leong, T. S., Gamalath, C. J., Martin, G. J., & Ashokkumar, M. (2019). Effects of high pressure, microwave and ultrasound processing on proteins and enzyme activity in dairy systems—A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 57, 102192. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102192>
- Moghaddam, M. F. T., Jalali, H., Nafchi, A. M., & Nouri, L. (2020). Evaluating the effects of lactic acid bacteria and olive leaf extract on the quality of gluten-free bread. *Gene Reports*, 21, 100771.

- Othman, M., Ariff, A. B., Rios-Solis, L., & Halim, M. (2017). Extractive fermentation of lactic acid in lactic acid bacteria cultivation: A review. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2285. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02285>
- Ozturkoglu-Budak, S., Wiebenga, A., Bron, P. A., & de Vries, R. P. (2016). Protease and lipase activities of fungal and bacterial strains derived from an artisanal raw ewe's milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 17–27. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.007>
- Razzaq, A., Shamsi, S., Ali, A., Ali, Q., Sajjad, M., Malik, A., & Ashraf, M. (2019). Microbial proteases applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 110.
- Zielinska, D., & Kolozyn-Krajewska, D. (2018). Food-origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties. *BioMed Research International*, 2018, 1–15.
- Saidi, Y., Del Rio, B., Senouci, D. E., Redruello, B., Martinez, B., Ladero, V., Kihal, M., & Alvarez, M. A. (2020). Polyphasic Characterisation of Non-Starter Lactic Acid Bacteria from Algerian Raw Camel's Milk and Their Technological Aptitudes. *Food Technology and Biotechnology*, 58(3), 260–272. <https://doi.org/10.17113/ftb.58.03.20.6598>
- Sarabhai, S., Tamilselvan, T., & Prabhasankar, P. (2021). Role of enzymes for improvement in gluten-free foxtail millet bread: It's effect on quality, textural, rheological and pasting properties. *LWT*, 137, 110365. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110365>
- Savijoki, K., Ingmer, H., & Varmanen, P. (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(4), 394–406. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0427-1>
- Scarnato, L., Montanari, C., Serrazanetti, D. I., Aloisi, I., Balastro, F., Del Duca, S., & Lanciotti, R. (2017). New bread formulation with improved rheological properties and longer shelf-life by the combined use of transglutaminase and sourdough. *LWT-Food Science and Technology*, 81, 101–110.
- Sharma, M., Gat, Y., Arya, S., Kumar, V., Panghal, A., & Kumar, A. (2019). A review on microbial alkaline protease: an essential tool for various industrial approaches. *Industrial Biotechnology*, 15(2), 69–78. <https://doi.org/10.1089/ind.2018.0032>
- Singh, P. K., Shrivastava, N., & Ojha, B. K. Enzymes in the meat industry. In *Enzymes in Food Biotechnology: Production, Applications, and Future Prospects*, (pp. 111–128).
- Sun, F., Hu, Y., Yin, X., Kong, B., & Qin, L. (2020). Production, purification and biochemical characterization of the microbial protease produced by *Lactobacillus fermentum* R6 isolated from Harbin dry sausages. *Process Biochemistry*, 89, 37–45.
- Sun, F., Sun, Q., Zhang, H., Kong, B., & Xia, X. (2019). Purification and biochemical characteristics of the microbial extracellular protease from *Lactobacillus curvatus* isolated from Harbin dry sausages. *International journal of biological macromolecules*, 133, 987–997. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.05.030>
- Toe, C. J., Foo, H. L., Loh, T. C., Mohamad, R., Abdul Rahim, R., & Idrus, Z. (2019). Extracellular proteolytic activity and amino acid production by lactic acid bacteria isolated from Malaysian foods. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(7), 1777. <https://doi.org/10.3390/ijms20071777>
- Venegas-Ortega, M. G., Flores-Gallegos, A. C., Martínez-Hernández, J. L., Aguilar, C. N., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2019). Production of bioactive peptides from lactic acid bacteria: a sustainable approach for healthier foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4), 1039–1051. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12455>
- Waško, A., Kieliszek, M., & Targoński, Z. (2012). Purification and characterization of a proteinase from the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* OXY. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 42(5), 476–488. <https://doi.org/10.1080/10826068.2012.656869>
- Worsztynowicz, P., Białas, W., & Grajek, W. (2020). Integrated approach for obtaining bioactive peptides from whey proteins hydrolysed using a new proteolytic lactic acid bacteria. *Food Chemistry*, 312, 126035. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126035>
- Worsztynowicz, P., Schmidt, A. O., Białas, W., & Grajek, W. (2019). Identification and partial characterization of proteolytic activity of *Enterococcus faecalis* relevant to their application in dairy industry. *Acta Biochimica Polonica*, 66(1), 61–69. [https://doi.org/10.18388/abp.2018\\_2714](https://doi.org/10.18388/abp.2018_2714)
- Zagorec, M., & Champomier-Vergès, M. C. (2017). *Lactobacillus sakei*: A starter for sausage fermentation, a protective culture for meat products. *Microorganisms*, 5(3), 56. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030056>
- Zhao, C. J., Schieber, A., & Gänzle, M. G. (2016). Formation of taste-active amino acids, amino acid derivatives and peptides in food fermentations—A review. *Food Research International*, 89, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.042>

## REFERENCES

- Ageeva, N. M., Prah, A. V., Nasonov A. I., & Suprun I. I. (2018). Investigation of the technological properties of new wine yeast strains isolated from the spontaneous microflora of grapes. *Plodovodstvo i vinogradarstvo YUGA Rossii* [Fruit growing and viticulture of the South of Russia], 52(04), 110–122.
- Bisengaliev, R. M., Sadykov, R. S., & Akbatyrova, E. T. (2016). Probiotics and prebiotics as the basis of functional nutrition. *Molodoi uchenyi* [Young scientist], 8(112), 185–188.
- Biryuk, E. N., Furik, N. N., Hodarenok, E. P., & Siderko, I. A. (2021). Development of a dry biopreservative based on heterofermentative lactic acid bacteria. *Korma i kormovodstvo* [Forage and Fodder], 4(56), 63–66.
- Danil'chuk, T. N., Efremova, YU. G., & Korystina, I. V. (2020). Drinks based on whey and sublimates of plant sprouts. *Hranenie i pererabotka sel'hozsyrya* [Storage and Processing of Farm Products], (3), 69–79. <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.305>
- Danil'chuk, T. N., Abdrashitova, G. G., Rusalieva, D. A., & Grigor'eva, S. A. (2019). Unconventional approaches to poultry meat processing. *Hranenie i pererabotka sel'hozsyrya* [Storage and Processing of Farm Products], (1), 35–43.
- Kablova, M. A., SHurhno, R. A., & Sirotkin, A. S. (2015). Lactic acid bacteria in agricultural production. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta* [Bulletin of the Kazan Technological University], 8(23), 145–149.
- Kruger, A.V., & Sturova, YU.G. (2016). The use of cheese whey for the production of vitamin drinks as a factor in increasing the competitiveness of an enterprise. *Polzunovskii vestnik* [Polzunovskiy Bulletin], (3), 18–22.
- Merenkova, S. P., Potoroko, I. YU., Zaharov, I. V., & Bajbakov, V. I. (2015). Prospects for the use of probiotic microorganisms in the technology of whole muscle products. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv* [Technique and technology of food production], (1), 47–53.
- Nesterenko, A. A., & SHkhalahov, D. S. (2014). The use of consortiums of microorganisms for the processing of meat raw materials in the technology of sausage production. *Molodoi uchenyi* [Young scientist], 13(72), 71–75.
- Nikiforova, A. P., & Hamagaeva, I. S. (2022). Study of the biotechnological potential of the *Lactobacillus sake* strain. *Vestnik MGTU* [MGTU Bulletin], 24(3), 277–286.
- Posokina, O. YU., Lyalina, A. I., Zaharova, A. I., SHishlova, E. S., & Tereshok, V. I. (2018). Science-based approaches to the vegetable fermentation process and the benefits of using bacterial starter cultures. *Ovoshchi Rossii* [Vegetables of Russia], 43(5), 77–80.
- Raimbekov, A. Z., Athamova, S. K., & Dodaev, K. O. (2018). The use of whey protein in baby food. *Universum: Tekhnicheskie nauki* [Universum: Engineering Sciences], 4(49).
- Tsareva, N. I., & Artemova, E. N. (2014). *Bobovye v tekhnologii produktov pitaniya so vzbivnoy strukturoj* [Legumes in the technology of food products with whipped structure: monograph]. Gosuniversitet – UNPK.
- SHenderov, B. A., Zaharchenko, M. M., & Sinica, A. V. (2018). Techniques and technologies for restoring eating disorders and nutritional imbalance in a modern person. *Donozologiya i zdorovyi obraz zhizni* [Donosology and healthy lifestyle], 1(22), 76–88.
- Abada, E. A. (2019). Application of microbial enzymes in the dairy industry. In *Enzymes in food biotechnology*, (pp. 61–72).
- Ahmad, M. N., Mat Noh, N. A., Abdullah, E. N., Yarmo, M. A., Mat Piah, M. B., & Ku Bulat, K. H. (2019). Optimization of a protease extraction using a statistical approach for the production of an alternative meat tenderizer from *Spondias cytherea* roots. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(11), e14192. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14192>
- Arshad, M. S., Kwon, J. H., Imran, M., Sohaib, M., Aslam, A., Nawaz, I., Amjad, Z., Khan, U. & Javed, M. (2016). Plant and bacterial proteases: A key towards improving meat tenderization, a mini review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1261780.
- Biscola, V., Choiset, Y., Rabesona, H., Chobert, J. M., Haertlé, T., & Franco, B. D. G. M. (2018). Brazilian artisanal ripened cheeses as sources of proteolytic lactic acid bacteria capable of reducing cow milk allergy. *Journal of Applied Microbiology*, 125(2), 564–574. <https://doi.org/10.1111/jam.13779>
- Bos Santos Aguilar, J. G., & Sato, H. H. (2018). Microbial proteases: production and application in obtaining protein hydrolysates. *Food Research International*, 103, 253–262. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.044>
- Cichosz, G., Kornacki, M., Giczewska, M. A. R. T. A., & Konopka, A. (2006). Aktywnosc peptydazowa wybranych szczepow *Lactobacillus*. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 13(1), 66–74.
- Chlebowska-Śmigiel, A., Kycia, K., Neffe-Skocińska, K., Kieliszek, M., Gniewosz, M., & Kołożyn-Krajewska, D. (2019). Effect of pullulan on physicochemical, microbiological, and sensory quality of yogurts. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 20(6), 489–496. <https://doi.org/10.2174/1389201020666190416151129>
- Da Silva, R. R. (2017). Bacterial and fungal proteolytic enzymes: production, catalysis and potential applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 183(1), 1–19. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2427-2>
- García-Cano, I., Rocha-Mendoza, D., Ortega-Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E., & Jiménez-Flores, R. (2019). Lactic acid

- bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(13), 5243–5257. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09844-6>
- Ji, D., Ma, J., Xu, M., & Agyei, D. (2021). Cell-envelope proteinases from lactic acid bacteria: Biochemical features and biotechnological applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 369–400. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12676>
- Kavitake, D., Kandasamy, S., Devi, P. B., & Shetty, P. H. (2018). Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods—A review. *Food Bioscience*, 21, 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.11.003>
- Kenny, O., FitzGerald, R. J., O'cuinn, G., Beresford, T., & Jordan, K. (2003). Growth phase and growth medium effects on the peptidase activities of *Lactobacillus helveticus*. *International Dairy Journal*, 13(7), 509–516. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(03\)00073-6](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(03)00073-6)
- Krasnowska, G. (2004). Próba wykorzystania enzymów pochodzenia mikrobiologicznego do degradacji surowców zwierzęcych bogatych w tkankę łączną. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 11(1), 84–93.
- Kumar, B. M., Sarabhai, S., & Prabhasankar, P. (2019). Targeted degradation of gluten proteins in wheat flour by prolyl endoprotease and its utilization in low immunogenic pasta for gluten sensitivity population. *Journal of Cereal Science*, 87, 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.03.001>
- Lim, Y. H., Foo, H. L., Loh, T. C., Mohamad, R., & Abdullah, N. (2019). Comparative studies of versatile extracellular proteolytic activities of lactic acid bacteria and their potential for extracellular amino acid productions as feed supplements. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0323-z>
- Linares-Morales, J. R., Cuellar-Nevárez, G. E., Rivera-Chavira, B. E., Gutiérrez-Méndez, N., Pérez-Vega, S. B., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2020). Selection of lactic acid bacteria isolated from fresh fruits and vegetables based on their antimicrobial and enzymatic activities. *Foods*, 9(10), 1399. <https://doi.org/10.3390/foods9101399>
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Gomez, B., Barba, F. J., Mora, L., Perez-Santaescolastica, C., & Toldra, F. (2018). Bioactive peptides as natural antioxidants in food products—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 79, 136–147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.003>
- Mamo, J., & Assefa, F. (2018). The role of microbial aspartic protease enzyme in food and beverage industries. *Journal of Food Quality*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7957269>
- Matti, A., Utami, T., Hidayat, C., & S. Rahayu, E. (2019). Isolation, Screening, and identification of proteolytic lactic acid bacteria from indigenous Chao product. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 28(7), 781–793. <https://doi.org/10.1080/10498850.2019.1639872>
- Munir, M., Nadeem, M., Qureshi, T. M., Leong, T. S., Gamlath, C. J., Martin, G. J., & Ashokkumar, M. (2019). Effects of high pressure, microwave and ultrasound processing on proteins and enzyme activity in dairy systems—A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 57, 102192. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102192>
- Moghaddam, M. F. T., Jalali, H., Nafchi, A. M., & Nouri, L. (2020). Evaluating the effects of lactic acid bacteria and olive leaf extract on the quality of gluten-free bread. *Gene Reports*, 21, 100771.
- Othman, M., Ariff, A. B., Rios-Solis, L., & Halim, M. (2017). Extractive fermentation of lactic acid in lactic acid bacteria cultivation: A review. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2285. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02285>
- Ozturkoglu-Budak, S., Wiebenga, A., Bron, P. A., & de Vries, R. P. (2016). Protease and lipase activities of fungal and bacterial strains derived from an artisanal raw ewe's milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 17–27. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.007>
- Razzaq, A., Shamsi, S., Ali, A., Ali, Q., Sajjad, M., Malik, A., & Ashraf, M. (2019). Microbial proteases applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 110.
- Zielinska, D., & Kolozyn-Krajewska, D. (2018). Food-origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties. *BioMed Research International*, 2018, 1–15.
- Saidi, Y., Del Rio, B., Senouci, D. E., Redruello, B., Martinez, B., Ladero, V., Kihal, M., & Alvarez, M. A. (2020). Polyphasic Characterisation of Non-Starter Lactic Acid Bacteria from Algerian Raw Camel's Milk and Their Technological Aptitudes. *Food Technology and Biotechnology*, 58(3), 260–272. <https://doi.org/10.17113/ftb.58.03.20.6598>
- Sarabhai, S., Tamilselvan, T., & Prabhasankar, P. (2021). Role of enzymes for improvement in gluten-free foxtail millet bread: It's effect on quality, textural, rheological and pasting properties. *LWT*, 137, 110365. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110365>
- Savijoki, K., Ingmer, H., & Varmanen, P. (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(4), 394–406. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0427-1>
- Scarnato, L., Montanari, C., Serrazanetti, D. I., Aloisi, I., Bal-estra, F., Del Duca, S., & Lanciotti, R. (2017). New bread formulation with improved rheological properties and longer shelf-life by the combined use of transglutaminase and sourdough. *LWT-Food Science and Technology*, 81, 101–110.
- Sharma, M., Gat, Y., Arya, S., Kumar, V., Panghal, A., & Kumar, A. (2019). A review on microbial alkaline protease: an essential tool for various industrial approaches. *Industrial*

- Biotechnology*, 15(2), 69–78. <https://doi.org/10.1089/ind.2018.0032>
- Singh, P. K., Shrivastava, N., & Ojha, B. K. Enzymes in the meat industry. In *Enzymes in Food Biotechnology: Production, Applications, and Future Prospects*, (pp. 111–128).
- Sun, F., Hu, Y., Yin, X., Kong, B., & Qin, L. (2020). Production, purification and biochemical characterization of the microbial protease produced by *Lactobacillus fermentum* R6 isolated from Harbin dry sausages. *Process Biochemistry*, 89, 37–45.
- Sun, F., Sun, Q., Zhang, H., Kong, B., & Xia, X. (2019). Purification and biochemical characteristics of the microbial extracellular protease from *Lactobacillus curvatus* isolated from Harbin dry sausages. *International journal of biological macromolecules*, 133, 987–997. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.05.030>
- Toe, C. J., Foo, H. L., Loh, T. C., Mohamad, R., Abdul Rahim, R., & Idrus, Z. (2019). Extracellular proteolytic activity and amino acid production by lactic acid bacteria isolated from Malaysian foods. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(7), 1777. <https://doi.org/10.3390/ijms20071777>
- Venegas-Ortega, M. G., Flores-Gallegos, A. C., Martínez-Hernández, J. L., Aguilar, C. N., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2019). Production of bioactive peptides from lactic acid bacteria: a sustainable approach for healthier foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4), 1039–1051. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12455>
- Waśko, A., Kieliszek, M., & Targoński, Z. (2012). Purification and characterization of a proteinase from the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* OXY. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 42(5), 476–488. <https://doi.org/10.1080/10826068.2012.656869>
- Worsztynowicz, P., Białas, W., & Grajek, W. (2020). Integrated approach for obtaining bioactive peptides from whey proteins hydrolysed using a new proteolytic lactic acid bacteria. *Food Chemistry*, 312, 126035. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126035>
- Worsztynowicz, P., Schmidt, A. O., Białas, W., & Grajek, W. (2019). Identification and partial characterization of proteolytic activity of *Enterococcus faecalis* relevant to their application in dairy industry. *Acta Biochimica Polonica*, 66(1), 61–69. [https://doi.org/10.18388/abp.2018\\_2714](https://doi.org/10.18388/abp.2018_2714)
- Zagorec, M., & Champomier-Vergès, M. C. (2017). *Lactobacillus sakei*: A starter for sausage fermentation, a protective culture for meat products. *Microorganisms*, 5(3), 56. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030056>
- Zhao, C. J., Schieber, A., & Gänzle, M. G. (2016). Formation of taste-active amino acids, amino acid derivatives and peptides in food fermentations—A review. *Food Research International*, 89, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.042>