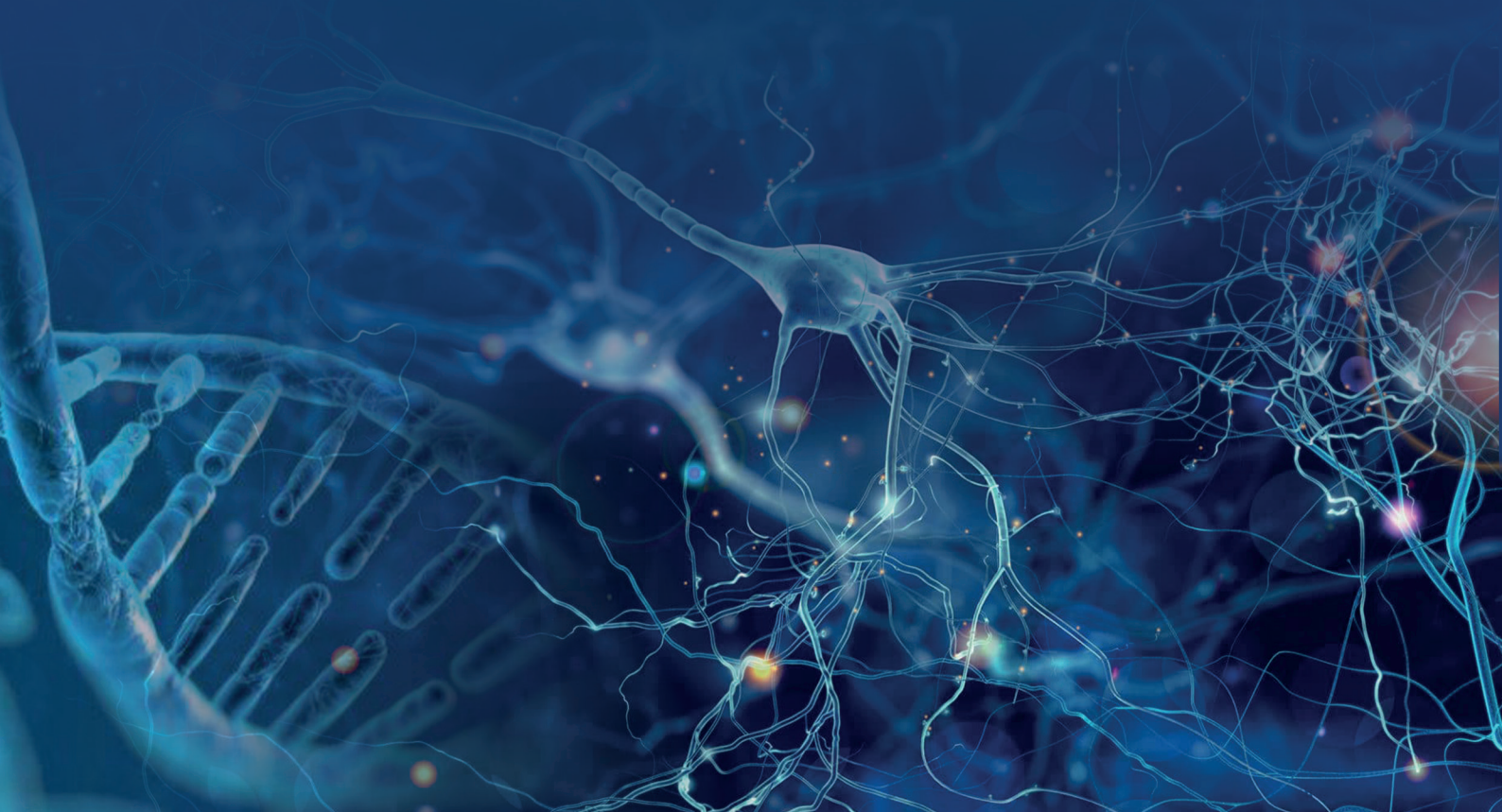


ISSN 2712-7648

HEALTH, FOOD, & BIOTECHNOLOGY

Volume 2, Issue 4
Year 2020



HFB

Health, Food and Biotechnology

№ 4 – 2020

Периодичность издания – 4 номера в год

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет пищевых производств» (ФГБОУ ВО МГУПП)

Редакция

Заведующий редакцией – Косычева Марина Александровна
Выпускающий редактор – Косычева Марина Александровна
Редактор по этике – Хорохорина Галина Анатольевна
Медийный редактор – Вохминцева Елена Павловна

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: info@spfp-mgupp.ru

Официальный сайт учредителя: mgupp.ru

Официальный сайт редакции: hfb-mgupp.com

© ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», 2020.

No 4 – 2020

Periodicity of publication – 4 issues per year

Founder: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Moscow State University of Food Production» (FSBEI HE MSUFP)

Editorial Team

Head of Editorial Team – Marina A. Kosycheva
Editor of Issue – Marina A. Kosycheva
Ethics Editor – Galina A. Khorokhorina
Social Media and Product Editor – Elena P. Vokhmintseva

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: info@spfp-mgupp.ru

Official web site of Founder: mgupp.ru

Official web site of the Editorial Office: hfb-mgupp.com

© FSBEI HE «Moscow State University of Food Production», 2020.

Редакционный совет

Главный редактор **БАЛЫХИН Михаил Григорьевич** – доктор экономических наук, профессор, ректор

Члены редакционного совета:

Абаева Курманкуль Тулеутаевна	Казахский национальный аграрный университет, Республика Казахстан
Асанова Дания Касимовна	Казахский национальный аграрный университет, Республика Казахстан
Бурлибаев Малик Жолдасович	Казахское агентство прикладной экологии, Республика Казахстан
Есполов Тлектес Исабаевич	Казахский национальный аграрный университет, Республика Казахстан
Игнар Штефан	Варшавский университет естественных наук, Польша
Игнатенко Григорий Анатольевич	Донецкий национальный медицинский университет им М. Горького, Украина
Сагян Ашот Серобович	Научно-производственный центр "Армбиотехнология" НАН РА, Республика Армения
Самбандам Ананадан	Национальный институт технологий, Индия
Сарсекова Дани Нургисаевна	Казахский агротехнический университет имени Сакена Сейфуллина, Республика Казахстан
Северинов Константин Викторович	Институт молекулярной генетики РАН, Институт биологии гена РАН, Россия
Фриас Йезус	Дублинский технологический институт, Ирландия
Хайтович Филипп Ефимович	Институт Вычислительной Биологии в Шанхае, Сколтех, Китай, Россия
Цыганова Татьяна Борисовна	Московский государственный университет пищевых производств, Россия,
Щетинин Михаил Павлович	Московский государственный университет пищевых производств, Россия
Юнусова Гульнара Батырбековна	Костанайский государственный университет имени А.Байтурсынова, Республика Казахстан

Editorial Board

Editor-in-Chief **Mikhail G. Balykhin** – Doctor of Economics, Professor, Rector

Members of the Editorial Board:

Kurmankul T. Abayeva	Kazakh National Agrarian University, Kazakhstan
Daniya K. Asanova	Kazakh National Agrarian University, Kazakhstan
Jesus Frias	Dublin Institute of Technology, Ireland
Malik Burlibayev	Kazakhstan Agency of Applied Ecology, Kazakhstan
Tlektes I. Espolov	Kazakh National Agrarian University, Kazakhstan
Philipp E. Khaitovich	Institute for Computational Biology by the Chinese Academy of Sciences; Skoltech, China, Russia
Ashot S. Saghyan	National Academy of Sciences of the Republic of Armenia, Armenia
Anandan Sambandam	National Institute of Technology Tiruchirappalli, India
Dani N. Sarsekova	S. Seifullin Kazakh Agro Technical University, Kazakhstan
Mikhail P. Schetinin	Moscow State University of Food Production, Russia
Konstantin V. Severinov	Institute of Gene Biology Russian Academy of Sciences, Russia
Ignar Stefan	Warsaw University of Life Sciences, Poland
Tatiana B. Tsyganova	Moscow State University of Food Production, Russia
Gulnara B. Yunusova	A. Baitursynov Kostanay State University, Kazakhstan
Grigory A. Ignatenko	M. Gorky Donetsk National Medical University, Ukraine

Содержание

Редакторская статья

Косычева М.А., Тихонова Е.В.

Этика научной коммуникации как уважение к читателю..... 7

Здоровье

Ватутин Н.Т., Тарадин Г.Г., Ракитская И.В., Харченко А.В., Стехина К.В., Гасендич Е.С., Могилевская К.Э.
Гиполипидемическая терапия в особых ситуациях..... 12

Кириш И.А., Тверитникова И.С., Безнаева О.В., Банникова О.А., Кондратова Т.А., Филинская Ю.А., Губанова М.И., Фролова Ю.В.
Исследование влияния ультразвуковой обработки полиэтиленовых композиций, содержащих бетулин, на формирование эксплуатационных свойств упаковочных материалов 28

Ламоткин И.А., Корабельников Д.И., Шибанова М.Д., Ламоткин А.И.
Предраковые интраэпителиальные неоплазии полового члена: современная терминология в соответствии с классификацией ВОЗ опухолей мочевыделительной системы и мужских половых органов 2016 г. 41

Питание

Данильчук Ю.В.
Тепловой эффект растворения углеводов в водно-органических средах 58

Ткач А.Н., Корпачева С.М.
Перспективы использования комплексных добавок из природного сырья при разработке хлебобулочных изделий функциональной направленности 60

Биотехнологии

Сазонова О.И., Ветрова А.А., Гафаров А.Б., Шарова М.В., Соколов С.Л.
Выделение и характеристика штамма *Pantoea cupripedii* 4A, продуцирующего высокомолекулярный экзополисахарид 70

Житков В.В., Федоренко Б.Н., Быков А.В.
Питательные свойства хлеба с добавлением пивной дробины 81

Ахангаран М., Гаравири М., Масумян М.
Исследование генетической изменчивости лакричника (*Glycyrrhiza glabra*) Иран с помощью молекулярных ДНК-маркеров (RAPD) 90

Content

Editorial

M. Kosycheva, E. Tikhonova

Ethics of scientific communication as a means of respect for readers..... 11

Health

N. Vatutin, G. Taradin, I. Rakitskaya, A. Kharchenko, K. Stekhina, I. Linnik, D. Bort, E. Gasendich, K. Mogilevskaya

Lipid-lowering therapy in special situations 23

I. Kirsh, I. Tveritnikova, O. Beznaeva, O. Bannikova, T. Kondratova, Y. Filinskaya, M. Gubanova, Y. Frolova

Investigation of the effect of ultrasonic treatment of polyethylene compositions containing betulin 39

I. Lamotkin, D. Korabelnikov, M. Shibaeva, A. Lamotkin

Pre-cancerous penile intraepithelial neoplasia. Modern terminology according to the 2016 WHO Classification of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs 47

Food

Y. Danilchuk

Thermal Effect of Carbohydrate Dissolution in Aqueous-Organic Media..... 49

A. Tkach, S. Korpacheva

Prospects for the use of complex additives from natural raw materials in the development of functional bakery products 68

Biotechnology

O. Sazonova, A. Vetrova, A. Gafarov, M. Sharova, S. Sokolov

Isolation and characterization of the *Pantoea cyripedii* 4A strain producing high molecular weight exopolysaccharide 78

V. Zhitkov, B. Fedorenko, A. Bykov

Nutritional properties of bread with the addition of brewing spent grains..... 87

M. Ahangaran, M. Gharaviri, M. Masoumian

A Study on the Genetic Variation in Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) Iran by Molecular DNA Markers (RAPD)..... 89

Этика научной коммуникации как уважение к читателю

Косычева Марина Александровна¹, Тихонова Елена Викторовна¹

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Корреспонденция, касающаяся этой статьи, должна быть адресована Косычевой М.А., ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», адрес: 125080, город Москва, Волоколамское шоссе, дом 11. E-mail: kosychevama@mgupr.ru

Анализируется этика научной коммуникации с точки зрения соблюдения юридических и моральных норм, социальной ответственности и уважения к читателю. Рассматриваются формы академического плагиата. Подробно описываются формы скрытого плагиата – переводной плагиат и самоплагиат. Уделяется внимание методам распознавания плагиата в переводе.

Ключевые слова: цитирование, перефразирование, автоплагиат, плагиат перевода

Толковый словарь русского языка под редакцией С.И. Ожегова трактует термин этика как «совокупность норм поведения (обычно применительно к какой-либо группе)»¹. Данное толкование подразумевает, что общение цивилизованных людей основывается на совокупности правил, этических принципах, которые определяют степень адекватности взаимоотношений членов конкретной группы, и нормы, благодаря которым эти отношения становятся приемлемыми для каждого.

Этим правилам призвано следовать и научное сообщество. Чтобы успешно заниматься исследованиями, ученый должен следовать принципам научной этики, под которыми подразумеваются вполне конкретные моральные принципы и нормы, которых придерживаются ученые во всем мире. Вне этих установлений наука не сможет функционировать стабильно и эффективно. Результаты научных исследований должны соответствовать следующим этическим принципам, а именно, они должны быть:

- проверяемыми (подтверждаться эмпирически);
- воспроизводимыми (любой ученый может получить подобный результат, если будет следовать описанной методологии);
- объективными (исследователь должен быть беспристрастным);
- прозрачными (проверяемыми);
- логически не противоречивыми (Кочетков, 2017).

Публикации являются способом распространения научного знания и его результатов среди научного сообщества и круга заинтересованных лиц. Каждая статья должна восприниматься как новая реплика в обсуждении той, или иной области научного знания. Авторы, которые делятся результатами своих исследований, несут ответственность за их достоверность, следовательно, они должны полно и исчерпывающе описывать не только результаты, но и методы, которыми они пользовались, и всю подготовительную работу. Любые данные, даже те, которые могут поставить под сомнение представленные результаты, должны быть обнародованы.

Помимо моральных принципов, этика научной коммуникации подразумевает юридическую ответственность за неправомерное использование авторских материалов в интересах отдельных лиц, которые ведут к нарушению прав на интеллектуальную собственность². Очевидно, что строгое соблюдение норм публикационной этики как элемент политики журнала способно оказать определяющее влияние не только на качество публикуемого журналом научного контента, но и на личностное и профессиональное развитие автора и читателей (Тихонова, 2020).

При этом, каждому автору необходимо помнить об уважении к читателю. Для того, чтобы читатель и рецензент могли свободно ориентироваться в научных

¹ Толковый словарь Ожегова онлайн. <https://slovarozhegova.ru/word.php?wordid=36381>

² «Гражданский кодекс Российской Федерации (часть четвертая)» от 18.12.2006 N 230-ФЗ (ред. от 11.06.2021) (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.08.2021) Статья 1252. Защита исключительных прав. http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_64629/a68c2e03d7967da86ff598906972cd025196845e/

публикациях, ученые структурируют свои работы согласно общепризнанной модели IMRAD, которая воспроизводит логику исследования. Авторы, уделяя внимание самому исследованию, часто забывают, что основной задачей любой научной работы является заполнение пробела в существующем научном знании, следовательно, читателя нужно не только познакомить с процедурой исследования и результатами, но и обосновать, как проведенное исследование вписывается в научный контекст (Косычева, Балыхин, 2019). Принципиально важно, чтобы каждый структурный компонент статьи выполнял свою роль. Неприемлемой является ситуация, когда структурные компоненты в рукописи выделены только с целью следования заданной структуре.

В условиях информационной революции, когда информация перестала быть чем-то ценным и недоступным, когда любой желающий может получить сведения о любом интересующем его вопросе, используя Интернет, очень важно исключить информационный шум в научной коммуникации. Соответственно, структурные компоненты рукописи статьи исследования должны «работать»: доносить до читателя информацию, которую он рассчитывает найти именно в данном конкретном разделе.

Аннотация (Abstract) призвана проинформировать читателя о сути и результатах реализованного исследования, стимулировать его к прочтению рукописи. Более того, рецензент в ситуации двойного слепого рецензирования получает только текст аннотации. Следовательно, аннотация, которая не будет отражать структуру рукописи (её актуальность, заполняемый пробел в научном знании, цели и задачи, процедура исследования, основные результаты и их применимость в реальной практике) окажется неинформативной и может ввести в заблуждение читателя.

Иными словами, этика научной коммуникации предполагает не только строгое следование этическим принципам и нормам, но и уважение к читателю при создании рукописи. Любой человек, знакомящийся с рукописью, окажется её читателем (коллеги по цеху, аспиранты, студенты, редакторы, рецензенты, заинтересованная аудитория). Отсюда, способность автора описать исследование, строго следуя «функциональной составляющей» каждого структурного компонента статьи, во многом определяет её эффективность.

Задача введения (Introduction) – осветить актуальность исследуемой проблематики; аналитически описать основные тренды в изучении указанной проблемы с опорой на ведущие статьи, посвящен-

ные сходной проблематике; выявить пробел в знании на тему. По своей сути, введение призвано пояснить читателю, зачем реализовано исследование и как оно вписывается в существующую парадигму научного знания.

Более того, эффективное введение способно служить дорожной картой всего исследования и позволяет отказать от литературных обзоров, которые многие авторы считают необходимым структурным компонентом любой эмпирической статьи. Литературный обзор можно свести к следующей формуле: «Я прочитал такие-то источники по теме и сейчас опишу их для Вас». Далеко не всегда понятно, зачем читателю эта информация. Вся необходимая для понимания востребованности и обоснованности проведенного исследования информация должна быть представлена во введении (в том числе и **критический** анализ текущего знания по теме).

Методология исследования подробно описывается в разделе «Методы и материалы / Методология». Раздел подразделяется на подсекции Материалы, Оборудование, Методы, Процедура исследования, Анализ данных. Детальное описание всех этапов и нюансов исследования является гарантом этических принципов воспроизводимости и прозрачности. Чем подробнее будут описаны этапы эксперимента, тем выше его верифицируемость. Многие авторы полагают, что детальное описание исследования может повлечь потерю авторства на разработку. На самом деле, ситуация выглядит диаметрально противоположно. Подобный подход позволяет автору стать первоисточником, на который впоследствии будут ссылаться другие исследователи в области, а любые попытки замаскировать или фальсифицировать, и как следствие, запутать читателя, считаются нарушением научной этики, которая выступает против фабрикаций и фальсификаций (Кочетков, 2017).

Описывая результаты исследования (раздел «Результаты» (Results)), авторы иногда стремятся сразу интерпретировать результаты, тем самым нарушая принцип объективности. В данном разделе у аудитории должна быть возможность познакомиться с реальными результатами научной работы, новыми экспериментальными данными. Неуместная интерпретация может отвлечь от восприятия новых данных. При этом, важно представлять результаты в максимально систематизированном и визуализированном формате. Понимая, что таблицы / графики и другие средства визуализации не должны дублироваться в тексте. Отсюда, владение релевантными инструментами визуализации данных принимает все большее значение. Круговые и столбчатые диаграммы уже далеко не всегда способны должным об-

разом визуализировать данные. Логика представления результатов так же зачастую отсутствует у многих авторов. Представление результатов должно строго следовать этапам процедуры исследования. Системность в представлении результатов значительным образом усиливает персуазивное воздействие рукописи.

В большинстве рукописей раздел «Дискуссия» (Discussion) либо отсутствует как таковой, либо является таковым только по названию. Этот раздел подразумевает сравнение полученных в описываемом исследовании результатов с результатами подобных исследований других авторов. Именно это сравнение позволяет реализовать (дистанционную) дискуссию проблемы, демонстрирует место полученных в исследовании результатов в научный дискурс. Большинство авторов, к сожалению, реализуют описание указанной секции следуя логике «Я получил следующие результаты и сейчас объясню Вам, что они значат». Вполне очевидно, что любые результаты должны быть интерпретированы в фокусе мирового научного дискурса, а не с позиций индивидуальных воззрений автора.

Еще с большими трудностями авторы сталкиваются при написании раздела «Выводы». В лучшем случае, принято следовать практике пересказа полученных результатов другими словами. Подобный подход полностью нивелирует функцию данного раздела. Выводы призваны подчеркнуть успешность реализации цели исследования, полноту ответа на исследовательский вопрос, применимость полученных результатов в жизненных реалиях и направления дальнейших исследований.

К сожалению, на практике, авторы не всегда следуют заданной структуре, или, что хуже, выделяют данные структурные компоненты, но не следят за тем, насколько содержащаяся в них информация соответствует задачам каждого раздела. Пока авторы не поймут, насколько важно соблюдать требования к структуре статьи в вопросе содержания структурных компонентов, не будут грамотно распределять необходимую информацию, данная модель не будет работать.

Оптимальным путем выстраивания эффективной научной коммуникации с уважением к читателю, является целенаправленное изучение техник академического письма, успешно реализуемой центрами

наукометрии и академического письма во многих вузах. Однако, в большинстве случаев, состоявшие ученые полагают себя достаточно квалифицированными для представления результатов исследования и ввиду загруженности, избегают подобные программы обучения. Вместе с тем, реальность требует выстраивание научной коммуникации на международном уровне таким образом, чтобы читателю с различными этно-культурными и образовательными бэкграундами был понятен функциональный посыл каждого структурного компонента статьи. Отсюда, обучение корректному структурированию рукописей стайей молодых ученых представляется сегодня необходимым этапом выстраивания этики научной коммуникации с уважением к читателю.

Цель науки – нести людям новое знание. Однако, ситуация в современном научном сообществе складывается таким образом, что многих исследователей интересует не столько знакомство широкой публики с чем-то новым, сколько повышение своей публикационной активности (Кочетков, 2017). Авторы зачастую прибегают к самоплагиату, который также рассматривается комитетами по этике как научное мошенничество. Этот вопрос вызывает большое количество споров и разногласий в научном сообществе (Ермаков, Полилова, 2019), так как авторы не понимают, почему они не могут повторно публиковать свои собственные исследования и наработки, слегка видоизменяя их. Здесь следует упомянуть, что дублирование научной информации является информационным шумом, мешает другим исследователям находить необходимые данные и вводит в заблуждение научное сообщество (Кулешова, Чехович, Беленькая, 2019). И, совершенно очевидно, что уважение к читателю не является определяющим для авторов, склонных к самоплагиату. Именно поэтому, многие научные журналы предъявляют строгие критерии в отношении доли авторских работ, которые можно использовать повторно. Кроме того, большинство журналов проверяют рукописи с помощью программного обеспечения для обнаружения плагиата, прежде чем рассматривать их для рецензирования³.

По данным Wiley⁴ одной из самых распространенных форм плагиата является плагиат с перефразированием. Специалисты полагают, что использование чужого текста, даже если слова в предложении отличаются, все равно считается плагиатом, так как оригинальная идея остается той же. Также

³ 8 самых распространенных видов плагиата, от которых следует держаться подальше! <https://www.enago.ru/academy/8-most-common-types-of-plagiarism-to-stay-away-from/>

⁴ Eassom, H. (February 2, 2016). 10 Types of Plagiarism in Research. <https://www.wiley.com/network/researchers/submission-and-navigating-peer-review/10-types-of-plagiarism-in-research>

сложным для обнаружения считается мозаичный или лоскутный плагиат, когда оригинальный и заимствованный тексты наслаиваются друг на друга.

Более трудоемкой формой плагиата можно считать переводной плагиат. В этом году комиссия РАН по противодействию фальсификации научных исследований завершила очередное расследование⁵, в котором пристальное внимание уделялось переводному плагиату в «хищнических» зарубежных журналах из списка Web of Science и Scopus. Было выявлено более 200 статей с машинным (в некоторых случаях иным) переводом уже опубликованных статей на русском языке с измененным авторством. По данным доклада, 94 зарубежных журнала, входящих в базы данных Web of Science Core Collection или Scopus, опубликовали 174 переведенных автоматически статьи с плагиатом из русскоязычных источников, а также 85 статей с приписным соавторством. В переводном плагиате участвовало более 1100 российских авторов. Всего в изученных «хищных» журналах опубликовано около 23700 публикаций российских авторов. Девять журналов приняли к публикации заведомо лженаучные статьи, переведенные компьютерными программами⁶.

К переводному плагиату относят:

тексты, которые ранее были опубликованы в российских источниках и были переведены онлайн-программами;

приписное соавторство, когда «новая статья» получается в результате машинного перевода уже опубликованной ранее научной работы, написанной соавторами;

добавление в текст новых литературных источников для того, чтобы скрыть плагиат путем корректирования уже опубликованных статей⁷.

Выявить случаи подобного плагиата достаточно трудно и занимает много времени, так как авторы в таких случаях используют несколько видов заимствований, включая перифраз и частичное заимствование, которые рассматриваются как формы научного мошенничества.

Большой процент замаскированного научного плагиата зачастую остается незамеченным (Dougherty,

2020). Хотя учеными ведутся разработки по выявлению переводческого плагиата, в научном сообществе нет стандартного программного обеспечения для сопоставления текстов. Чаще всего переводной плагиат может быть обнаружен в журналах, которые ожидают присвоения квартиля, но не рассчитывают импакт-фактор.

Таким образом, реализация научной коммуникации с уважением к читателю требует не только следования этическим нормам создания и распространения научных рукописей, но и их функционального выстраивания и избегания любых форм плагиата. И если этические нормы публикационной активности находят все большее признание по всему миру, то «корректное звучание всех структурных элементов рукописи» все еще требует внимания со стороны авторов и институтов, реализующих подготовку будущих ученых.

Литература

- Ермаков, А. В., & Полилова, Т. А. (2019). Диссернет и автоплагиат. В *Научный сервис в сети Интернет* (с. 329-338). ИПМ им. М.В. Келдыша РАН. <https://doi.org/10.20948/abrau-2019-01>
- Косычева, М. А., & Балыхин, М. Г. (2019). Структура научной статьи: эмпирическое исследование. *Health, Food & Biotechnology*, 1(2), 7–10. <https://doi.org/10.36107/hfb.2019.i2.s270>
- Кочетков, Д. М. (2017). Эссе об этике науки. *Научный редактор и издатель*, 2(1), 41-44. <https://doi.org/10.24069/2542-0267-2017-1-41-44>
- Кулешова, А. В., Чехович, Ю. В., & Беленькая, О. С. (2019). По лезвию бритвы: как самоцитирование не превратить в самоплагиат. *Научный редактор и издатель*, 4(1-2), 45-51. <https://doi.org/10.24069/2542-0267-2019-1-2-45-51>
- Тихонова, Е. В. (2020). Международный форум «Peer Review Week 2020», 21–25 сентября 2020 г. Сессия Российского отделения Европейской ассоциации научных редакторов (EASE) и Ассоциации научных редакторов и издателей (АНРИ), 24 сентября 2020 г., Москва, Россия. *Научный редактор и издатель*, 5(2), 135–144. <https://dx.doi.org/10.24069/2542-0267-2020-2-135-144>
- Dougherty, M. V. (2020). Disguised Academic Plagiarism. In *Research Ethics Forum* 8, pp. 13-36. https://doi.org/10.1007/978-3-030-46711-1_213

⁵ Беляева, С. (Июнь, 2020). Осторожно: хищники! РАН объявляет войну переводному плагиату. <https://poisknews.ru/ran/ostorozhno-hishhniki-ran-obyavlyayet-voynu-perevodnomu-plagiatu/>

⁶ Доклад Комиссии РАН по противодействию фальсификации научных исследований о хищных журналах и переводном плагиате. <http://www.ras.ru/news/shownews.aspx?id=24971447-ebfb-47b5-a3c2-9d26d467dac1>

⁷ Хищнические журналы и переводной плагиат. <https://xn--80aegcaa6cbngm5a6c1ci.xn--p1ai/hishhnicheskie-zhurnaly-i-plagiat/>

Ethics of Scientific Communication as a Means of Respect for Readers

Marina A. Kosycheva¹, Elena V. Tikhonova¹

¹ *Moscow State University of Food Production*

Correspondence concerning this article should be addressed to Marina A. Kosycheva, Moscow State University of Food Production, 11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation.
E-mail: kosychevama@mgupp.ru

The ethics of scientific communication from the point of view of compliance with legal and moral norms, social responsibility and respect for the reader is analyzed. Forms of academic plagiarism are considered. One of the forms of hidden plagiarism - translation plagiarism - is described in detail. Attention is paid to methods of recognition of plagiarism in translation.

Keywords: citation, paraphrasing, auto plagiarism, translation plagiarism

References

- Ermakov, A. V., & Polilova, T. A. (2019). Dissertnet and auto-plagiarism. In *Nauchnyi servis v seti Internet* [Scientific service on the Internet] (p. 329-338). Keldysh Institute of Applied Mathematics. <https://doi.org/10.20948/abrau-2019-01>
- Kosycheva, M. A., & Balykhin, M. G. (2019). Scientific Paper Structuring: Empirical Research. *Health, Food & Biotechnology*, 1(2), 7-10. <https://doi.org/10.36107/hfb.2019.i2.s270>
- Kochetkov, D. M. (2017). Essay on Academic Ethics. *Nauchnyi Redaktor i Izdatel'* [Science Editor and Publisher], 2(1), 41-44. <https://doi.org/10.24069/2542-0267-2017-1-41-44>
- Kuleshova, A. V., Chekhovich, Yu. V., & Belenkaya, O. S. (2019). Walking the razor's edge: how to avoid self-plagiarism when you recycle your texts. *Nauchnyi Redaktor i Izdatel'* [Science Editor and Publisher], 4(1-2), 45-51. <https://doi.org/10.24069/2542-0267-2019-1-2-45-51>
- Tikhonova, E. V. (2020). Peer Review Week 2020, September 21-25, 2020: Joint Session of the Russian Regional Chapter of EASE & Association of Science Editors and Publishers (ASEP), September 24, 2020, Moscow, Russia. *Nauchnyi Redaktor i Izdatel'* [Science Editor and Publisher], 5(2), 135-144. <https://doi.org/10.24069/2542-0267-2020-2-135-144>
- Dougherty, M. V. (2020). Disguised Academic Plagiarism. In *Research Ethics Forum* 8, pp. 13-36. https://doi.org/10.1007/978-3-030-46711-1_213

Гиполипидемическая терапия в особых ситуациях

Ватутин Николай Тихонович^{1,2}, Тарадин Геннадий Геннадьевич^{1,2},
Ракитская Ирина Валериевна¹, Харченко Анастасия Владимировна¹,
Стегина Кристина Вадимовна¹, Гасендич Екатерина
Сергеевна¹, Могилевская Кристина Элмурадовна¹

¹ ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени
М. Горького»

² ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака»

*Корреспонденция, касающаяся этой статьи, должна быть адресована Ватутину Н.Т.,
ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», адрес: 283003,
город Донецк, пр. Ильича, 16, e-mail: kafedra_vatutin@mail.ru*

Обзор посвящен вопросам применения гиполипидемических препаратов у отдельных категорий больных, а именно у пациентов с острым коронарным синдромом, инфарктом, хронической сердечной недостаточностью, клапанной болезнью сердца, атеросклерозом центральных и периферических артерий, хронической болезнью почек, а также лиц, которым предстоит чрескожное коронарное вмешательство. Отмечается, что всем пациентам с острым коронарным синдромом без каких-либо противопоказаний или непереносимости рекомендуется начинать (или продолжать) терапию статинами в высоких дозах как можно раньше, независимо от начальных значений холестерина липопротеинов низкой плотности. Если целевой уровень липопротеинов низкой плотности не достигнут через 4-6 нед применения максимально переносимой дозы статинов, рекомендуется комбинация с эзетимибом, а при недостаточной эффективности этой комбинации – добавление ингибитора пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9. Стратегия короткого предварительного лечения либо нагрузки (в случае предшествующей терапии) высокими дозами статинов должна рассматриваться при плановом чрескожном коронарном вмешательстве или остром коронарном синдроме без элевации сегмента ST. Использование статинов с целью снижения уровня холестерина не показано пациентам с сердечной недостаточностью при отсутствии других показаний. Гиполипидемическая терапия при атеросклеротическом поражении сонных артерий заметно снижает риск инсульта. Рекомендации по лечению дислипидемий у пациентов, перенесших трансплантацию органов, сопоставимы с теми, которые используются для пациентов с высоким или очень высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний, хотя необходимо уделять больше внимания причинам липидных нарушений и возможным побочным эффектам, связанным с лекарственными взаимодействиями.

Ключевые слова: дислипидемия, гиполипидемическая терапия, острый коронарный синдром, инфаркт, сердечная недостаточность, клапанная болезнь сердца, атеросклеротическое поражение периферических артерий

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), основными из которых являются поражения атеросклеротического генеза, ответственны за более чем 4 млн смертельных случаев в Европе ежегодно (Mach et al., 2020). Дислипидемия признана самостоятельным фактором риска развития заболеваний коронарных артерий и периферических сосудов, связанных с атеросклерозом, и является мишенью разнообразных воздействий, в том числе медикаментозных,

направленных на уменьшение риска возникновения и прогрессирования ССЗ (Helkin et al., 2016). За последнее столетие связь между дислипидемией и атеросклерозом активно изучается, поскольку распространенность атеросклероза, ССЗ и их осложнений в промышленно развитых странах стала увеличиваться (Helkin, 2016). Итогом проведенных исследований стало создание нескольких групп гиполипидемических препаратов: статины, фибраты, ингибиторы абсорбции холестерина (эзетимиб), ингибиторы пропротеин конвертазы субтилизин/

кексин типа 9, секвестранты желчных кислот, а также ломитапид и мипомерсен (Ватутин и др., 2020). Общая тактика гиполипидемической терапии регламентируется клиническими рекомендациями, основанными на данных рандомизированных клинических исследований (РКИ), однако в некоторых ситуациях её следует подкорректировать с учетом особенностей сопутствующих заболеваний. В настоящей статье представлены подходы к гиполипидемической терапии, регламентированные последними клиническими рекомендациями ESC/EAS по лечению дислипидемии от 2019 года, у пациентов особых клинических групп. Тактика ведения таких пациентов имеет свои особенности и представляет определенные трудности в клинической практике. В частности, это касается больных с острым коронарным синдромом (ОКС), инсультом, хронической сердечной недостаточностью (ХСН), клапанной болезнью сердца, атеросклерозом центральных и периферических артерий, хронической болезнью почек (ХБП), а также лиц, которым предстоит чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ).

В обзоре представлены данные, касающиеся подходов к гиполипидемической терапии у категорий больных, имеющих различные сердечно-сосудистые и сопутствующие заболевания. Целью данного обзора является анализ применения гиполипидемических препаратов у пациентов с острым коронарным синдромом, инсультом, хронической сердечной недостаточностью, клапанной болезнью сердца, атеросклерозом центральных и периферических артерий, хронической болезнью почек, а также лиц, которым предстоит чрескожное коронарное вмешательство.

Методология

При работе с источниками использовались поисковые запросы в базе данных Scopus и Web of Science. В обзор были включены в основном статьи, опубликованные на английском языке; поиск был ограничен периодом с 2001 по 2020 год; дата начала соответствует времени, когда стали появляться исследования по гиполипидемической терапии. В центре внимания были статьи, опубликованные в научных журналах, прошедшие процедуру рецензирования.

Результаты и их обсуждение

Гиполипидемическая терапия у пациентов с острым коронарным синдромом

В связи с тем, что у пациентов, недавно перенесших ОКС, повышен риск развития повторных сер-

дечно-сосудистых событий, лечение дислипидемии должно проводиться в контексте комплексной стратегии снижения сердечно-сосудистого риска, включающей изменение образа жизни, воздействие на факторы риска, использование кардиопротективных лекарственных препаратов и оптимальной гиполипидемической терапии (Kureshi, et al., 2016).

Уровень холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛПНП) имеет тенденцию к снижению в течение первых дней ОКС, поэтому профиль липидов должен быть получен сразу же после поступления больного в стационар в связи с ОКС. Гиполипидемическую терапию следует начинать как можно раньше, чтобы повысить приверженность пациента к лечению после выписки. Уровни липидов после ОКС следует оценивать спустя 4-6 нед, чтобы определить, были ли достигнуты цели лечения и насколько оно безопасно (Szummer et al., 2017).

Статины

Данные РКИ и мета-анализов показывают, что раннее использование терапии статинами в высоких дозах при ОКС связано с быстрым и устойчивым благоприятным клиническим эффектом (Navarese et al., 2014; Schwartz et al., 2017). Поэтому высокоинтенсивная терапия статинами должна быть начата при отсутствии противопоказаний всем пациентам с ОКС, ранее не принимавшим статины, независимо от начальных значений ХС-ЛПНП. Цель лечения – добиться снижения уровня ХС-ЛПНП на 50% от исходного значения, целевой уровень ХС-ЛПНП < 1,4 ммоль/л. У пациентов с рецидивами коронарных событий в течение 2 лет на фоне приема максимально переносимой дозы статинов, целевым значением ХС-ЛПНП является <1,0 ммоль/л. Доза статина должна быть увеличена у пациентов, на момент развития ОКС уже получающих лечение низкими или средними дозами, за исключением случаев имеющейся в анамнезе непереносимости высоких доз статинов. Использование низких доз статинов следует рассматривать у пациентов с повышенным риском побочных эффектов при применении статинов в высоких дозах: пожилых, пациентов с почечной или печеночной недостаточностью или в случаях потенциального риска лекарственного взаимодействия с другими принимаемыми препаратами (Mach et al., 2020) (Табл. 1).

У пациентов с ОКС с запланированным инвазивным лечением следует рассматривать возмож-

Таблица 1

Рекомендации по гиплипидемической терапии у пациентов очень высокого риска с ОКС и у больных, которым планируется выполнение ЧКВ (Mach, F. et al., 2020)

Рекомендации	Класс рекомендаций	Уровень доказательств
Всем пациентам с ОКС без каких-либо противопоказаний или непереносимости в анамнезе рекомендуется начинать или продолжать терапию статинами в высоких дозах как можно раньше, независимо от начальных значений ХС-ЛПНП.	I	A
Уровни липидов следует повторно оценить через 4-6 недель после ОКС, чтобы определить, достигнуты ли их снижение на >50% от исходного уровня и целевой уровень ХС-ЛПНП <1,4 ммоль/л. Одновременно необходимо оценить безопасность лечения и соответствующим образом провести коррекцию дозы статинов.	IIa	C
Если целевой уровень ХС-ЛПНП не достигнут через 4-6 недель применения максимально переносимой дозы статинов, рекомендуется их комбинированное применение с эзетимибом.	I	B
Если целевой уровень ХС-ЛПНП не достигнут через 4-6 недель, несмотря на максимально переносимую терапию статинами и эзетимибом, рекомендуется добавление ингибитора PCSK9.	I	B
У пациентов с подтвержденной непереносимостью статинов или при наличии противопоказаний к их применению, следует рассмотреть возможность терапии эзетимибом.	IIa	C
Пациентам с ОКС, у которых не был достигнут целевой уровень ХС-ЛПНП несмотря на прием максимально переносимых доз статинов и эзетимиба до развития коронарного события, рекомендуется добавление ингибитора PCSK9 как можно раньше (при возможности – во время госпитализации по поводу ОКС).	IIa	C
Стратегия короткого предварительного лечения либо нагрузки (на фоне предшествующей терапии) высокими дозами статинов должна рассматриваться при проведении ЧКВ при ОКС.	IIa	B

Примечание. ОКС – острый коронарный синдром; ХС-ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности; PCSK9 – пропротеин конвертаза субтилизин/кексин типа 9; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство.

ность предварительного приема высоких доз статинов (или нагрузочной дозы для пациентов, уже получающих статин) (Berwanger et al., 2018).

Эзетимиб

В ряде исследований было показано, что добавление эзетимиба к терапии статинами обеспечило дополнительный положительный эффект у пациентов с ОКС – общее число сердечно-сосудистых событий, инсультов и повторных госпитализаций снизилось в среднем на 9% (Murphy et al., 2016; Nagiawara et al., 2017; Kato et al., 2017). Наиболее выраженным был положительный эффект у пациентов с повышенным атеротромботическим риском (Bohula et al., 2017).

Ингибиторы пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9

В двух крупных РКИ (FOURIER и ODYSSEY) показано, что добавление ингибиторов пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9 (ингибиторов PCSK9) к терапии статинами заметно улучшает как непосредственные, так и отдаленные

результаты лечения больных с острыми и хроническими формами ишемической болезни сердца (ИБС) (Sabatine et al., 2018; Giugliano et al., 2017; Schwartz et al., 2018). При этом отмечалась хорошая переносимость таких препаратов группы, как эволокумаб и алирокумаб: не выявлены серьезные побочные эффекты или проблемы безопасности при их использовании. Однако оптимальное время начала ингибирования PCSK9 после ОКС и его влияние на клинические исходы еще предстоит определить. Основываясь на имеющихся данных, рекомендуется начинать лечение ингибиторами PCSK9 у пациентов с ОКС, которые не достигли целевых значений ХС-ЛПНП после 4-6 нед. терапии максимально переносимыми дозами статинов и эзетимиба (Koskinas et al., 2018; Giugliano et al., 2017; Schwartz et al., 2018). Пациентам с ОКС, у которых не был достигнут целевой уровень ХС-ЛПНП, несмотря на прием максимально переносимых доз статинов и эзетимиба до развития коронарного события, рекомендуется добавление ингибитора PCSK9 как можно раньше (при возможности во время госпитализации по поводу ОКС) (Koskinas et al., 2018; Giugliano et al., 2017; Schwartz et al., 2018).

Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты

Несмотря на сообщения о пользе пероральных добавок с высокоочищенными омега-3 полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК) после перенесенного инфаркта миокарда (ИМ), проведенный мета-анализ доступных РКИ не показал снижения смертности, повторного ИМ или крупных сосудистых катастроф при их использовании (Aung et al., 2018). Следовательно, не рекомендуется рутинное лечение ОКС с помощью омега-3 ПНЖК.

Гиполипидемическая терапия у пациентов, которым планируется чрескожное коронарное вмешательство

Изначальное лечение статинами в высоких дозах или их высокая нагрузочная доза перед плановым или ургентным ЧКВ снижает риск смерти, ИМ или повторной реваскуляризации ранее оперированной коронарной артерии почти на 50% (Patti et al., 2011). Следует рассмотреть стратегию короткого предварительного лечения либо нагрузки высокими дозами статинов (на фоне предшествующей терапии) при плановом ЧКВ или ОКС без элевации сегмента ST.

Кроме того, предварительное лечение статинами снижает риск контраст-индуцированного острого повреждения почек после коронарной ангиографии или ЧКВ (Kim et al., 2010).

Гиполипидемическая терапия при инсульте

Инсульт имеет гетерогенную этиологию, включая тромбоэмболические события кардиального происхождения (часто связанную с фибрилляцией предсердий, эмболический инсульт неустановленного источника), атеросклеротическое и тромбоэмболические поражения сонной артерии и проксимального отдела аорты, ССЗ мелких сосудов и внутримозговое кровоизлияние, включая внутримозговое и субарахноидальное. Доказана роль дислипидемии в патогенезе ишемического инсульта и транзиторных ишемических атак (ТИА), в то время как её связь с другими типами инсульта остается неопределенной (Mach, F. et al., 2020).

После ишемического инсульта или ТИА пациенты подвержены риску не только повторных cerebro-vascularных событий, но и других главных сердечно-сосудистых катастроф, включая ИМ. Вторичная профилактика статинами снижает риск рецидивов инсульта (риск снижается на 12% при сниже-

нии ХС-ЛПНП на 1 ммоль/л), ИМ и смерти, обусловленной сосудистым поражением (Amarenco & Labreuche, 2009). Лечение статинами, предшествующее развитию ТИА, связано со снижением риска повторных ранних инсультов у пациентов со стенозом сонной артерии, что подтверждает целесообразность их назначения после инсульта как можно раньше (Flint et al., 2017). Терапия статинами может привести к небольшому увеличению риска геморрагического инсульта, но доказательства этой взаимосвязи пока сомнительны (Baigent et al., 2010).

Для пациентов с уровнями ХС-ЛПНП, не достигающими значений целевых, несмотря на агрессивное лечение статинами, необходимо рассмотреть возможность назначения ингибиторов PCSK9 (Bohula et al., 2015; Ntaios & Milionis, 2019).

Гиполипидемическая терапия при сердечной недостаточности

Гиполипидемическая терапия с применением статинов уменьшает частоту развития СН у пациентов с ИБС (стабильной ИБС или ОКС в анамнезе), ранее не имевших проявлений нарушения кровообращения. Два крупных РКИ (в основном включающих пациентов с систолической СН) (Kjekshus et al., 2007; Tavazzi et al., 2008), а также мета-анализ 24-х РКИ не показали положительного влияния лечения статинами на смертность от ССЗ или инсульта (Al-Gobari et al., 2017). По результатам объединенного анализа исследований CORONA и GISSI-HF было отмечено снижение количества госпитализаций по поводу СН и небольшое уменьшение частоты ИМ (Feinstein et al., 2015). На основании этих данных не рекомендуется рутинное назначение статинов пациентам с СН при отсутствии прочих показаний к их применению (например, ИБС) (Табл. 2) (Mach et al., 2020). Поскольку нет доказательств о каком-либо негативном эффекте у больных, принимающих статины после возникновения СН, нет необходимости прерывать их приём больными, уже находящимися на статинотерапии.

Нет доказательств благоприятного эффекта со стороны ингибиторов PCSK9 у пациентов с хронической СН (Bayes-Genis et al., 2017).

Применение омега-3 ПНЖК может принести небольшую пользу пациентам с хронической СН, о чем свидетельствует значительное снижение относительного риска смертности (на 9%) в РКИ GISSI-HF (Tavazzi et al., 2008).

Таблица №2

Рекомендации по применению гиполипидемической терапии у пациентов с хронической сердечной недостаточностью или клапанной болезнью сердца.

Рекомендации	Класс рекомендаций	Уровень доказательств
Инициация гиполипидемической терапии пациентам с сердечной недостаточностью не показана, если нет других показаний для такого лечения.	III	A
Инициация гиполипидемической терапии пациентам со стенозом аортального клапана, без сопутствующей ИБС, для замедления прогрессирования стеноза не рекомендована, если нет других показаний для ее назначения.	III	A

Примечание. ИБС – ишемическая болезнь сердца.

Гиполипидемическая терапия у больных с клапанной болезнью сердца (аортальным стенозом)

Аортальный стеноз увеличивает риск сердечно-сосудистых событий и смертности, а также часто сочетается с атеросклеротическими ССЗ. В культивируемых человеческих интерстициальных клетках клапанов сердца статины предотвращали остеогенную дифференциацию и уменьшали отложение кальция (Jarrett et al., 2019). Кроме того, прием аторвастатина снижал кальцификацию аортального клапана и экспрессию остеогенных маркеров при воспроизведении на животных такого варианта клапанной болезни сердца. Данные обсервационных исследований позволяют предполагать эффект интенсивного снижения уровня липидов в виде замедления прогрессирования стеноза нативного аортального клапана (Nørgaard et al., 2001; Smith et al., 2014; Tsimikas, 2017;). Однако это гипотеза не было подтверждена ни в РКИ, ни в мета-анализах исследований (Arsenault et al., 2014; Rossebø et al., 2008; Chan et al., 2010).

Склероз аортального клапана (кальциноз створок аортального клапана без значительного трансвальвулярного градиента давления) ассоциируется с повышенным риском развития ИБС даже при отсутствии других факторов риска. Вопрос о благоприятном эффекте статинов у больных с поражением аортального клапана и ИБС требует дальнейших исследований (Milin et al., 2014) (Табл. 2).

Гиполипидемическая терапия при атеросклеротическом поражении периферических артерий

Атеросклеротическое поражение периферических артерий обычно затрагивает бассейны сонных, позвоночных, мезентеральных и почечных сосудов. У пациентов, страдающих такой патологией, по-

вышен риск развития ИМ и коронарной смерти (Tendera et al., 2011).

Окклюзирующие заболевания артерий нижних конечностей

При наличии атеросклеротических окклюзирующих заболеваний артерий нижних конечностей гиполипидемическая терапия статинами, ингибиторами PCSK9 или фенофибратом достоверно уменьшает не только риск прогрессирования перемежающейся хромоты, ампутаций конечностей, но и развития тяжёлых сердечно-сосудистых катастроф, прежде всего ИМ.

Атеросклероз сонных артерий

Гиполипидемическая терапия при атеросклеротическом поражении сонных артерий снижает риск инсульта. Мета-анализ РКИ с участием более 90 тыс. пациентов показал, что использование статинов приводит к снижению частоты развития всех инсультов в различных популяциях пациентов на 21%. Этот эффект был обусловлен в основном уровнем снижения уровня ХС-ЛПНП (Amarenco, & Labreuche, 2009).

Атеросклероз сосудов сетчатки

Атеросклеротические изменения артерий сетчатки коррелируют с уровнем общего холестерина (ОХ), ХС-ЛПНП, триглицеридов, уровнем аполипопротеина-В и частотой ИБС. Использование гиполипидемических средств, в частности фенофибрата, замедляет прогрессирование диабетической ретинопатии (Chew et al., 2010).

Аневризма брюшного отдела аорты

Аневризма брюшного отдела аорты является состоянием, которое увеличивает риск для больно-

го эквивалентно риску при ИБС. Возникновение аневризмы этой локализации ассоциируется с возрастом, мужским полом, индивидуальным анамнезом атеросклеротических ССЗ, курением, артериальной гипертонией и дислипидемией (Golledge et al., 2006). Напротив, пациенты с сахарным диабетом имеют меньший риск развития аневризмы брюшного отдела аорты.

В настоящее время нет данных клинических исследований, посвященных изучению снижения сердечно-сосудистого риска с помощью гиполипидемической терапии у пациентов, страдающих этим заболеванием. Результаты систематических обзоров, основанных на данных ретроспективных нерандомизированных исследований, сообщают об отсутствии убедительных доказательств снижения периоперационной сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности на фоне терапии статинами.

В РКИ, сравнивающем применение 20 мг аторвастатина с плацебо, суммарный риск внезапной сердечной смерти, ИМ, инсульта и нестабильной стенокардии был значительно меньше у 100 пациентов, перенесших сосудистые внесердечные хирургические вмешательства, включая хирургическое лечение аневризмы брюшной аорты (Durazzo et al., 2004). В другом двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании у 497 пациентов, перенесших сосудистую операцию, периоперационная терапия флувастатином (80 мг/сут) приводила к улучшению кардиального исхода после операции (Schouten et al., 2009).

Реноваскулярный атеросклероз

Гиполипидемическая терапия никогда не была опробована в РКИ у пациентов с атеросклеротическим поражением почечных сосудов. Однако недавнее нерандомизированное популяционное исследование показало, что у пациентов старше 65 лет с атеросклеротическим реноваскулярным заболеванием подобная терапия может принести положительный кардиоренальный эффект (Nackam et al., 2011). Риск развития крупных кардиоренальных исходов (ИМ, инсульт, СН, острая почечная недостаточность, диализ и смерть) был значительно ниже у пациентов, принимающих статины, чем у тех, кто их не принимал (Nackam et al., 2011).

Таким образом, пациентам с поражением периферических артерий рекомендуется гиполипидемическая терапия, включающая максимально переносимую дозу статинов в комбинации с эзетимибом или ингибитором PCSK9 (при необходи-

мости), для снижения риска атеросклеротических ССЗ.

Гиполипидемическая терапия при воспалительных заболеваниях, связанных с высоким риском развития атеросклероза

Фундаментальные научные исследования установили роль хронического воспаления в опосредованном участии во всех стадиях атеросклеротического процесса: от инициации, прогрессирования и, в конечном итоге, до разрыва атеросклеротической бляшки и последующих тромботических осложнений (Tabas, & Lichtman, 2017). Примечательно, что накопление холестерина в клетках активирует инфламасому (много-белковый олигомерный комплекс, отвечающий за активацию воспалительного ответа), что приводит к выработке медиаторов воспаления, в частности интерлейкина-1 β (Emini Veseli et al., 2017).

Существуют доказательства (Bohula et al., 2015) положительного влияния терапии статинами, связанного как со снижением уровня холестерина, так и с уменьшением воспалительного процесса. Хотя другие гиполипидемические средства, такие как эзетимиб и ингибиторы PCSK9, не влияют на уровни высокочувствительного С-реактивного белка, но при добавлении к терапии статинами приводят к дальнейшему значительному снижению сердечно-сосудистых событий (Sahebkar et al., 2016).

Гиполипидемическая терапия лиц с хронической болезнью почек

Хроническая болезнь почек (ХБП) определяется как аномалии структуры или функции почек, существующие в течение 3 и более месяцев и имеющие последствия для здоровья. Известно, что ХБП и почечная недостаточность сопровождаются выраженной дислипидемией с повышением уровней триглицеридов, ХС-ЛПНП, снижением холестерина липопротеидов высокой плотности и прогрессирующим течением атеросклероза по мере усугубления почечной дисфункции (Tonelli, & Wanner, 2014). Пациенты с ХБП и диагностированными ССЗ имеют гораздо более высокий уровень смертности по сравнению с пациентами с ССЗ и нормальной функцией почек. Таким образом, больные с ХБП относятся к группе высокого (на 3 стадии ХБП) или очень высокого (на стадиях 4, 5 ХБП или находящиеся на гемодиализе) риска ССЗ (Mach et al., 2020).

Использование статинов или комбинации статинов и эзетимиба показано пациентам с ХБП 3-5 стадии без гемодиализа. У пациентов, прини-

мающих статины, эзетимиб или комбинацию статинов и эзетимиба на момент начала гемодиализа, следует продолжать прием этих препаратов, особенно при наличии ССЗ атеросклеротического генеза. Терапия статинами может рассматриваться у взрослых пациентов и после трансплантации почки. Следует также помнить, что при применении статинов, метаболизируемых с помощью CYP3A4, можно ожидать появления неблагоприятных последствий, связанных с лекарственными взаимодействиями, поэтому при их использовании у лиц с ХБП следует соблюдать особую осторожность.

Гиполипидемическая терапия у пациентов, перенесших трансплантацию

Нарушение липидного обмена часто встречается у лиц, перенесших трансплантацию сердца, легких, печени, почек или аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, что предрасполагает к развитию атеросклероза, в частности – в артериях трансплантата, вызывая развитие соответствующих осложнений (Agarwal, & Prasad, 2016). Иммуносупрессивная терапия также может оказывать неблагоприятное воздействие на метаболизм липидов, что приводит к увеличению уровня ОХ, ХС-ЛПОНП и триглицеридов, увеличению размеров и плотности частиц ХС-ЛПНП (Bamgbola, 2016).

Рекомендации по лечению дислипидемий у пациентов, перенесших трансплантацию, сопоставимы с теми, которые используются для пациентов с высоким или очень высоким риском ССЗ, хотя необходимо уделять больше внимания причинам липидных нарушений и возможным побочным эффектам, связанным с лекарственными взаимодействиями.

В качестве средств первой линии таким пациентам рекомендуются статины. Лечение следует начинать с низких доз с постепенным их повышением до достижения намеченного целевого уровня с постоянным контролем возможного лекарственного взаимодействия, особенно при сопутствующем применении циклоспорина (повышает концентрацию статинов плазмы крови) (Page et al., 2005). У пациентов с непереносимостью статинов или при наличии тяжелой дислипидемии, несмотря на лечение статинами в максимально переносимых дозах, целесообразно использовать эзетимиб.

Выводы

Подводя итог, следует отметить, что тщательный подбор гиполипидемической терапии в каждой

конкретной ситуации, основанный на данных современных РКИ и точных знаний используемых гиполипидемических препаратов, позволяет существенно улучшить результаты лечения больного.

Литература

- Ватутин, Н. Т., Тарадин, Г. Г., Ракитская, И. В., Харченко, А. В., Борт, Д. В., & Тов, И. В. (2020). Гиполипидемическая терапия при недостаточной эффективности или непереносимости статинов. *Вестник неотложной и восстановительной хирургии*, 5(4), 29-39.
- Agarwal, A., & Prasad, G. V. (2016). Post-transplant dyslipidemia: Mechanisms, diagnosis and management. *World Journal of Transplantation*, 6, 125-134. <http://doi.org/10.5500/wjt.v6.i1.125>
- Al-Gobari, M., Le, H. H., Fall, M., Gueyffier, F., & Burnand, B. (2017). No benefits of statins for sudden cardiac death prevention in patients with heart failure and reduced ejection fraction: A meta-analysis of randomized controlled trials. *PloS one*, 12(2), e0171168. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0171168>
- Amarenco, P., & Labreuche, J. (2009). Lipid management in the prevention of stroke: Review and updated meta-analysis of statins for stroke prevention. *The Lancet. Neurology*, 8, 453-463. [http://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70058-4](http://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70058-4)
- Arsenault, B. J., Boekholdt, S. M., Mora, S., De Micco, D. A., Bao, W., Tardif, J.-K., Amarenco, P., Pedersen, T., Barter, P., & Waters, D. D. (2014). Impact of high-dose atorvastatin therapy and clinical risk factors on incident aortic valve stenosis in patients with cardiovascular disease (from TNT, IDEAL, and SPARCL). *The American Journal of Cardiology*, 113, 1378-1382. <http://doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.01.414>
- Aung, T., Halsey, J., Kromhout, D., Gerstein, H. C., Marchioli, R., Tavazzi, L., Geleijnse, J. M., Rauch, B., Ness, A., Galan, P., Chew, E. Y., Bosch, J., Collins, R., Lewington, S., Armitage, G., & Clarke, R. (2018). Associations of omega-3 fatty acid supplement use with cardiovascular disease risks: Meta-analysis of 10 trials involving 77917 individuals. *JAMA Cardiology*, 3, 225-234. <http://doi.org/10.1001/jamacardio.2017.5205>
- Baigent, C., Blackwell, L., Emberson, J., Holland, L. E., Reith, C., Bhala, N., Peto, R., Barnes, E. H., Keech, A., Simes, J., & Collins, R. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration. (2010). Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: A meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials.

- Lancet*, 376, 1670-1681. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61350-5](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61350-5)
- Bamgbola, O. (2016). Metabolic consequences of modern immunosuppressive agents in solid organ transplantation. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 7, 110-127. <http://doi.org/10.1177/2042018816641580>
- Bayes-Genis, A., Nunez, J., Zannad, F., Ferreira, J. P., Anker, S. D., Cleland, J. G., Dickstein, K., Filippato, G., Lang, C. C., Leong, L. Ng., Ponikowski, P., Samani, N. J., van Veldhuisen, D. J., Zwinderman, A. H., Metra, M., Lupón, J., & Voors, A. A. (2017). The PCSK9-LDL receptor axis and outcomes in heart failure: BIOSTAT-CHF subanalysis. *Journal of the American College of Cardiology*, 70, 2128-2136. <http://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.08.057>
- Berwanger, O., Santucci, E. V., Jesuino, I. A., Damiani, L. P., Barbosa, L. M., Santos, R. H. N., Laranjeira, L. N., Egydio, F. M., Borges de Oliveira, J. A., Dall'Orto, F. T. C., Beraldo de Andrade, P., Bienert, I. R. C., Bosso, C. E., Mangione, J. A., Polanczyk, C. A., Sousa, A. G., M. R., Kalil, R. A. K., Santos, L. M., Sposito, A. C., Rech, R. L., Sousa, A. C. S., Baldissera, F., Nascimento, B. R., Giraldez, R. R. C. V., Cavalcanti, A. B., Pereira, S. B., Mattos, L. A., Armaganijan, L. V., Guimarães, H. P., Sousa, J. E. M. R., Alexander, J. H., Granger, C. B., & Lopes, R. D. (2018). Effect of loading dose of atorvastatin prior to planned percutaneous coronary intervention on major adverse cardiovascular events in acute coronary syndrome: The SECURE-PCI randomized clinical trial. *JAMA*, 319, 1331-1340. <http://doi.org/10.1001/jama.2018.2444>
- Bohula, E. A., Giugliano, R. P., Cannon, C. P., Zhou, J., Murphy, S. A., White, J. A., Tershakovec, A. M., Blazing, M. A., & Braunwald, E. (2015). Achievement of dual low-density lipoprotein cholesterol and high-sensitivity C-reactive protein targets more frequent with the addition of ezetimibe to simvastatin and associated with better outcomes in IMPROVE-IT. *Circulation*, 132, 1224-1233. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018381>
- Bohula, E. A., Wiviott, S. D., Giugliano, R. P., Blazing, M. A., Park, J.-G., Murphy, S. A., White, J. A., Mach, F., Van de Werf, F., Dalby, A. J., White, H. D., Tershakovec, A., Cannon, C. P., & Braunwald, E. (2017). Prevention of stroke with the addition of ezetimibe to statin therapy in patients with acute coronary syndrome in IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial). *Circulation*, 136, 2440-2450. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029095>
- Chan, K. L., Teo, K., Dumesnil, J. G., Ni, A., & Tam, J. (2010). Effect of Lipid lowering with rosuvastatin on progression of aortic stenosis: Results of the aortic stenosis progression observation: Measuring effects of rosuvastatin (ASTRONOMER) trial. *Circulation*, 121, 306-314. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.900027>
- Chew, E. Y., Ambrosius, W. T., Davis, M. D., Danis, R. P., Gangaputra, S., Greven, C. M., Hubbard, L., Esser, B. A., Lovato, J. F., Perdue, L. H., Goff, D. C. Jr., Cushman, W. C., Ginsberg, H. N., Elam, M. B., Genuth, S., Gerstein, H. C., Schubart, U., & Fine, L. J. (2010). Effects of medical therapies on retinopathy progression in type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine*, 363, 233-244. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1001288>
- Durazzo, A. E., Machado, F. S., Ikeoka, D. T., De Bernoche, C., Monachini, M. C., Puech-Leão, P., & Caramelli, B. (2004). Reduction in cardiovascular events after vascular surgery with atorvastatin: A randomized trial. *Journal of Vascular Surgery*, 39, 967-975; discussion 975-976. <http://doi.org/10.1016/j.jvs.2004.01.004>
- Emini Veseli, B., Perrotta, P., De Meyer, G. R. A., Roth, L., Van der Donckt, C., Martinet, W., & De Meyer, G. R. Y. (2017). Animal models of atherosclerosis. *European Journal of Pharmacology*, 816, 313. <http://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.05.010>
- Feinstein, M. J., Jhund, P., Kang, J., Ning, H., Maggioni, A., Wikstrand, J., Kjekshus, J., Tavazzi, L., McMurray, J., & Lloyd-Jones, D. M. (2015). Do statins reduce the risk of myocardial infarction in patients with heart failure? A pooled individual-level reanalysis of CORONA and GISSI-HF. *European Journal of Heart Failure*, 17, 434-441. <http://doi.org/10.1002/ehjhf.247>
- Flint, A. C., Conell, C., Ren, X., Kamel, H., Chan, S. L., Rao, V. A., & Johnston, S. C. (2017). Statin adherence is associated with reduced recurrent stroke risk in patients with or without atrial fibrillation. *Stroke*, 48, 1788-1794. <http://doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.017343>
- Giugliano, R. P., Pedersen, T. R., Park, J. G., De Ferrari, G. M., Gaciong, Z. A., Ceska, R., Toth, K., Gouni-Berthold, I., Lopez-Miranda, J., Schiele, F., Mach, F., Ott, B. R., Kanevsky, E., Pineda, A. L., Somaratne, R., Wasserman, S. M., Keech, A. C., Sever, P. S., & Sabatine, M. S. (2017). Clinical efficacy and safety of achieving very low LDL cholesterol concentrations with the PCSK9 inhibitor evolocumab: A prespecified secondary analysis of the FOURIER trial. *Lancet*, 390, 1962-1971. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32290-0](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32290-0)
- Golledge, J., Muller, J., Daugherty, A., & Norman, P. (2006). Abdominal aortic aneurysm: Pathogenesis and implications for management. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 26, 2605-2613. <http://doi.org/10.1161/01.ATV.0000245819.32762.cb>
- Hackam, D. G., Wu, F., Li, P., Austin, P. C., Tobe, S. W., Mamdani, M. M., & Garg, A. X. (2011). Statins and

- renovascular disease in the elderly: A population-based cohort study. *European Heart Journal*, 32, 598-610. <http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq452>
- Hagiwara, N., Kawada-Watanabe, E., Koyanagi, R., Arashi, H., Yamaguchi, J., Nakao, K., Tobaru, T., Tanaka, H., Oka, T., Endoh, Y., Saito, K., Uchida, T., Matsui, K., & Ogawa, H.. (2017). Low-density lipoprotein cholesterol targeting with pitavastatin и ezetimibe for patients with acute coronary syndrome and dyslipidaemia: the HIJ-PROPER study, a prospective, open-label, randomized trial. *European Heart Journal*, 38, 2264-2276. <http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx162>
- Helkin, A., Stein, J. J., Lin, S., Siddiqui, S., Maier, K. G., & Gahtan, V. (2016). Dyslipidemia Part 1 – Review of lipid metabolism and vascular cell physiology. *Vascular and Endovascular Surgery*, 50, 107–118. <http://doi.org/10.1177/1538574416628654>
- Jarrett, M. J., Yao, Q., Venardos, N., Weyant, M. J., Reece, T. B., Meng, X., & Fullerton, D. A. (2019). Simvastatin down-regulates osteogenic response in cultured human aortic valve interstitial cells. *The Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery*, 31, S0022-5223(19)32381-5. <http://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2019.10.081>
- Kato, E. T., Cannon, C. P., Blazing, M. A., Bohula, E., Guneri, S., White, J. A., Murphy, S. A., Park, J. G., Braunwald, E., & Giugliano, R. P. (2017). Efficacy and safety of adding ezetimibe to statin therapy among women and men: insight from IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial). *Journal of the American Heart Association*, 6, e006901. <http://doi.org/10.1161/JAHA.117.006901>
- Kim, J. S., Kim, J., Choi, D., Lee, C. J., Lee, S. H., Ko, Y. G., Hong, M. K., Kim, B. K., Oh, S. J., Jeon, D. W., Yang, J. Y., Cho, J. R., Lee, N. H., Cho, Y. H., Cho, D. K., & Jang, Y. (2010). Efficacy of high-dose atorvastatin loading before primary percutaneous coronary intervention in ST segment elevation myocardial infarction: The STATIN STEMI trial. *JACC. Cardiovascular Interventions*, 3, 332-339. <http://doi.org/10.1016/j.jcin.2009.11.021>
- Kjekshus, J., Apetrei, E., Barrios, V., Böhm, M., Cleland, J. G., Cornel, J. H., Dunselman, P., Fonseca, C., Goudev, A., Grande, P., Gullestad, L., Hjalmarson, A., Hradec, J., Jánosi, A., Kamenský, G., Komajda, M., Korewicki, J., Kuusi, T., Mach, F., Mareev, V., McMurray, J. J., Ranjith, N., Schaufelberger, M., Vanhaecke, J., van Veldhuisen, D. J., Waagstein, F., Wedel, H., & Wikstrand, J. (2007). Rosuvastatin in older patients with systolic heart failure. *The New England Journal of Medicine*, 357, 2248-2261. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa0706201>
- Koskinas, K. C., Windecker, S., Buhayer, A., Gencer, B., Pedrazzini, G., Mueller, C., Cook, S., Muller, O., Matter, C. M., Räber, L., Heg, D., & Mach, F. (2018). Design of the randomized, placebo-controlled evolocumab for early reduction of LDL-cholesterol levels in patients with acute coronary syndromes (EVOPACS) trial. *Clinical Cardiology*, 41, 1513-1520. <http://doi.org/10.1002/clc.23112>
- Kureshi, F., Kennedy, K. F., Jones, P. G., Thomas, R. J., Arnold, S. V., Sharma, P., Fendler, T., Buchanan, D. M., Qintar, M., Ho, P. M., Nallamothu, B. K., Oldridge, N. B., & Spertus, J. A. (2016). Association between cardiac rehabilitation participation and health status outcomes after acute myocardial infarction. *JAMA Cardiology*, 1, 980-988. <http://doi.org/10.1001/jamacardio.2016.3458>
- Mach, F., Baigent, C., Catapano, A. L., Koskinas, K. C., Casula, M., Badimon, L., Chapman, M. J., De Backer, G. G., Delgado, V., Ference, B. A., Graham, I. M., Halliday, A., Landmesser, U., Mihaylova, B., Pedersen, T. R., Riccardi, G., Richter, D. J., Sabatine, M. S., Taskinen, M. R., Tokgozoglu, L., & Wiklund, O. (2020). 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *European Heart Journal*, 41, 111-188. <http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>
- Milin, A. C., Vorobiof, G., Aksoy, O., & Ardehali, R. (2014). Insights into aortic sclerosis and its relationship with coronary artery disease. *Journal of the American Heart Association*, 3(5), e001111. <http://doi.org/10.1161/JAHA.114.001111>
- Murphy, S. A., Cannon, C. P., Blazing, M. A., Giugliano, R. P., White, J. A., Lokhnygina, Y., Reist, C., Im, K., Bohula, E. A., Isaza, D., Lopez-Sendon, J., Dellborg, M., Kher, U., Tershakovec, A. M., & Braunwald, E. (2016). Reduction in total cardiovascular events with ezetimibe/simvastatin post-acute coronary syndrome: The IMPROVE-IT trial. *Journal of the American College of Cardiology*, 67, 353-361. <http://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.10.077>
- Navarese, E. P., Kowalewski, M., Andreotti, F., van Wely, M., Camaro, C., Kolodziejczak, M., Gorny, B., Wirianta, J., Kubica, J., Kelm, M., de Boer, M. J., & Suryapranata, H. (2014). Meta-analysis of time-related benefits of statin therapy in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention. *The American Journal of Cardiology*, 113, 1753-1764. <http://doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.02.034>
- Novaro, G. M., Tiong, I. Y., Pearce, G. L., Lauer, M. S., Sprecher, D. L., & Griffin, B. P. (2001). Effect of hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors on the progression of calcific aortic stenosis. *Circulation*, 104, 2205-2209. <http://doi.org/10.1161/hc4301.098249>
- Ntaios, G., & Milionis, H. (2019). Low-density lipoprotein cholesterol lowering for the prevention

- of cardiovascular outcomes in patients with ischemic stroke. *International Journal of Stroke*, 14(5), 476-482. <http://doi.org/10.1177/1747493019851283>
- Page, R. L. 2nd, Miller, G. G., & Lindenfeld, J. (2005). Drug therapy in the heart transplant recipient: Part IV: Drug-drug interactions. *Circulation*, 111, 230-239. <http://doi.org/10.1161/01.CIR.0000151805.86933.35>
- Patti, G., Cannon, C. P., Murphy, S. A., Mega, S., Pasceri, V., Briguori, C., Colombo, A., Yun, K. H., Jeong, M. H., Kim, J. S., Choi, D., Bozbas, H., Kinoshita, M., Fukuda, K., Jia, X. W., Hara, H., Cay, S., & Di Sciascio, G. (2011). Clinical benefit of statin pretreatment in patients undergoing percutaneous coronary intervention: A collaborative patient-level meta-analysis of 13 randomized studies. *Circulation*, 123, 1622-1632. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.002451>
- Rossebø, A. B., Pedersen, T. R., Boman, K., Brudi, P., Chambers, J. B., Egstrup, K., Gerds, E., Gohlke-Bärwolf, C., Holme, I., Kesäniemi, Y. A., Malbecq, W., Nienaber, C. A., Ray, S., Skjaerpe, T., Wachtell, K., & Willenheimer, R. (2008). Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. *The New England Journal of Medicine*, 359, 1343-1356. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa0804602>
- Sabatine, M. S., De Ferrari, G. M., Giugliano, R. P., Huber, K., Lewis, B. S., Ferreira, J., Kuder, J. F., Murphy, S. A., Wiviott, S. D., Kurtz, C. E., Honarpour, N., Keech, A. C., Sever, P. S., & Pedersen, T. R. (2018). Clinical benefit of evolocumab by severity and extent of coronary artery disease. *Circulation*, 138, 756-766. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034309>
- Sahebkar, A., Di Giosia, P., Stamerra, C. A., Grassi, D., Pedone, C., Ferretti, G., Bacchetti, T., Ferri, C., & Giorgini, P. (2016). Effect of monoclonal antibodies to PCSK9 on high-sensitivity C-reactive protein levels: A meta-analysis of 16 randomized controlled treatment arms. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 81, 1175-1190. <http://doi.org/10.1111/bcp.12905>
- Schouten, O., Boersma, E., Hoeks, S. E., Benner, R., van Urk, H., van Sambeek, M. R., Verhagen, H. J., Khan, N. A., Dunkelgrun, M., Bax, J. J., & Poldermans, D. (2009). Fluvastatin and perioperative events in patients undergoing vascular surgery. *The New England Journal of Medicine*, 361, 980-989. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa0808207>
- Schwartz, G. G., Fayyad, R., Szarek, M., DeMicco, D., & Olsson, A. G. (2017). Early, intensive statin treatment reduces 'hard' cardiovascular outcomes after acute coronary syndrome. *European Journal of Preventive Cardiology*, 24, 1294-1296. <http://doi.org/10.1177/2047487317708677>
- Schwartz, G. G., Steg, P. G., Szarek, M., Bhatt, D. L., Bittner, V. A., Diaz, R., Edelberg, J. M., Goodman, S. G., Hanotin, C., Harrington, R. A., Jukema, J. W., Le-corps, G., Mahaffey, K. W., Moryusef, A., Pordy, R., Quintero, K., Roe, M. T., Sasiela, W. J., Tamby, J. F., Tricoci, P., White, H. D., & Zeiher, A. M. (2018). Alirocumab and cardiovascular outcomes after acute coronary syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 379, 2097-2107. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1801174>
- Smith, J. G., Luk, K., Schulz, C. A., Engert, J. C., Do, R., Hindy, G., Rukh, G., Dufresne, L., Almgren, P., Owens, D. S., Harris, T. B., Peloso, G. M., Kerr, K. F., Wong, Q., Smith, A. V., Budoff, M. J., Rotter, J. I., Cupples, L. A., Rich, S., Kathiresan, S., Orholm-Melander, M., Gudnason, V., O'Donnell, C. J., Post, W. S., & Thanassoulis, G. (2014). Association of low-density lipoprotein cholesterol-related genetic variants with aortic valve calcium and incident aortic stenosis. *JAMA*, 312, 1764-1771. <http://doi.org/10.1001/jama.2014.13959>
- Szumner, K., Wallentin, L., Lindhagen, L., Alfredsson, J., Erlinge, D., Held, C., James, S., Kellerth, T., Lindahl, B., Ravn-Fischer, A., Rydberg, E., Yndigegn, T., & Jernberg, T. (2017). Improved outcomes in patients with ST-elevation myocardial infarction during the last 20 years are related to implementation of evidence-based treatments: Experiences from the SWEDEHEART registry 1995-2014. *European Heart Journal*, 38, 3056-3065. <http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx515>
- Tabas, I., & Lichtman, A. H. (2017). Monocyte-macrophages and T cells in atherosclerosis. *Immunity*, 47, 621-634. <http://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.09.008>
- Tavazzi, L., Maggioni, A. P., Marchioli, R., Barlera, S., Franzosi, M. G., Latini, R., Lucci, D., Nicolosi, G. L., Porcu, M., & Tognoni, G. (2008). Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 372, 1223-1230. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61239-8](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61239-8)
- Tavazzi, L., Maggioni, A. P., Marchioli, R., Barlera, S., Franzosi, M. G., Latini, R., Lucci, D., Nicolosi, G. L., Porcu, M., Tognoni, G., & GISSI-HF Investigators (2008). Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* (London, England), 372(9645), 1223-1230. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61239-8](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61239-8)
- Tendera, M., Aboyans, V., Bartelink, M. L., Baumgartner, I., Clément, D., Collet, J. P., Cremonesi, A., De Carlo, M., Erbel, R., Fowkes, F. G., Heras, M., Kownator, S., Minar, E., Ostergren, J., Poldermans, D., Rimbau, V., Roffi, M., Röther, J., Sievert, H., van Sambeek, M., & Zeller, T. (2011). ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral artery diseases: Document covering atherosclerotic disease

- of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries: The task force on the diagnosis and treatment of peripheral artery diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 32, 2851-2906. <http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr211>
- Tonelli, M., & Wanner, C. (2014). Lipid management in chronic kidney disease: Synopsis of the Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2013 clinical practice guideline. *Annals of Internal Medicine*, 160, 182-189. <http://doi.org/10.7326/M13-2453>
- Tsimikas, S. (2017). A test in context: lipoprotein(a): Diagnosis, prognosis, controversies, and emerging therapies. *Journal of the American College of Cardiology*, 69, 692-711. <http://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.11.042>

Lipid-Lowering Therapy in Special Situations

Nikolaj T. Vatutin^{1,2}, Gennadiy G. Taradin^{1,2}, Irina V. Rakitskaya¹,
Anastasiya V. Kharchenko¹, Kristina V. Stekhina¹, Ilona G. Linnik¹,
Dmitriy V. Bort¹, Ekaterina S. Gasendich¹, Kristina E. Mogilevskaya¹

¹ State Educational Organization of Higher Professional Education "M. Gorky Donetsk National Medical University"

² State Institution "Institute of Urgent and Reconstructive Surgery named after V.K. Gusak"

Correspondence concerning this article should be addressed to Nikolaj T. Vatutin, State Educational Organization of Higher Professional Education "M. Gorky Donetsk National Medical University", 16 Ilyicha avenue, Donetsk, 283003, e-mail: kafedra_vatutin@mail.ru

The review is devoted to the use of lipid-lowering medicines in certain categories of patients, especially those with acute coronary syndrome, stroke, chronic heart failure, valvular heart disease, atherosclerosis of the central and peripheral arteries, chronic kidney disease, as well as in persons undergoing percutaneous coronary intervention. It is noted that all patients with acute coronary syndrome without any contraindications or intolerance are advised to start (or continue) high-dose statin therapy as early as possible, regardless of the initial values of low-density lipoprotein cholesterol. If the target level of low density lipoproteins is not reached after 4-6 weeks of using the maximum tolerated dose of statins, a combination with ezetimibe is recommended, and if this combination is not effective enough, the addition of a proprotein convertase inhibitor subtilisin / kexin type 9 is needed. Strategy of short pre-treatment or loading (in the case of prior therapy) with high doses of statins should be considered for elective percutaneous coronary intervention or acute coronary syndrome without ST-segment elevation. The use of statins to lower cholesterol levels is not indicated in patients with heart failure unless otherwise indicated. Lipid-lowering therapy for atherosclerotic lesions of the carotid arteries significantly reduces the risk of stroke. Recommendations for the treatment of dyslipidemia in organ transplant patients are comparable to those used for patients at high or very high risk of cardiovascular disease, although more attention needs to be paid to the causes of lipid abnormalities and possible side effects associated with drug interactions.

Key words: dyslipidemia, lipid-lowering therapy, acute coronary syndrome, stroke, heart failure, valvular heart disease, atherosclerotic lesions of peripheral arteries

References

- Vatutin, N. T., Taradin, G. G., Rakitskaya, I. V., Kharchenko, A. V., Bort, D. V., & Toy, I. V. (2020). Hypolipidemic therapy in insufficient efficacy or intolerance of statins. *Vestnik neotlozhnoj i vosstanovitel'noj hirurgii* [Bulletin of Urgent and Recovery Surgery], 5(4), 29-39.
- Agarwal, A., & Prasad, G. V. (2016). Post-transplant dyslipidemia: Mechanisms, diagnosis and management. *World Journal of Transplantation*, 6, 125-134. <http://doi.org/10.5500/wjt.v6.i1.125>
- Al-Gobari, M., Le, H. H., Fall, M., Gueyffier, F., & Burnand, B. (2017). No benefits of statins for sudden cardiac death prevention in patients with heart failure and reduced ejection fraction: A meta-analysis of randomized controlled trials. *PloS one*, 12(2), e0171168. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0171168>
- Amarenco, P., & Labreuche, J. (2009). Lipid management in the prevention of stroke: Review and updated meta-analysis of statins for stroke prevention. *The Lancet. Neurology*, 8, 453-463. [http://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70058-4](http://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70058-4)
- Arsenault, B. J., Boekholdt, S. M., Mora, S., De Micco, D. A., Bao, W., Tardif, J.-K., Amarenco, P., Pedersen, T., Barter, P., & Waters, D. D. (2014). Impact of high-dose atorvastatin therapy and clinical risk factors on incident aortic valve stenosis in patients with cardiovascular disease (from TNT, IDEAL, and SPARCL). *The American Journal of Cardiology*, 113, 1378-1382. <http://doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.01.414>
- Aung, T., Halsey, J., Kromhout, D., Gerstein, H. C., Marchioli, R., Tavazzi, L., Geleijnse, J. M., Rauch, B., Ness, A., Galan, P., Chew, E. Y., Bosch, J., Collins, R., Lewington, S., Armitage, G., & Clarke, R. (2018). Associations of omega-3 fatty acid supplement use with cardiovascular disease risks: Meta-analysis

How to Cite

Vatutin, N.T., Taradin, G.G., Rakitskaya, I.V., Kharchenko, A.V., Stekhina, K.V., Linnik, I.G., Bort, D.V., Gasendich, E.S., & Mogilevskaya, K.E. (2020). Lipid-Lowering therapy in special situations. *Health, Food & Biotechnology*, 2(4). <https://doi.org/10.36107/hfb.2020.i4.s88>

- of 10 trials involving 77917 individuals. *JAMA Cardiology*, 3, 225-234. <http://doi.org/10.1001/jamacardio.2017.5205>
- Baigent, C., Blackwell, L., Emberson, J., Holland, L. E., Reith, C., Bhala, N., Peto, R., Barnes, E. H., Keech, A., Simes, J., & Collins, R. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration. (2010). Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: A meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*, 376, 1670-1681. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61350-5](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61350-5)
- Bamgbola, O. (2016). Metabolic consequences of modern immunosuppressive agents in solid organ transplantation. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 7, 110-127. <http://doi.org/10.1177/2042018816641580>
- Bayes-Genis, A., Nunez, J., Zannad, F., Ferreira, J. P., Anker, S. D., Cleland, J. G., Dickstein, K., Filippato, G., Lang, C. C., Leong, L. Ng., Ponikowski, P., Samani, N. J., van Veldhuisen, D. J., Zwinderman, A. H., Metra, M., Lupón, J., & Voors, A. A. (2017). The PCSK9-LDL receptor axis and outcomes in heart failure: BIOSTAT-CHF subanalysis. *Journal of the American College of Cardiology*, 70, 2128-2136. <http://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.08.057>
- Berwanger, O., Santucci, E. V., Jesuino, I. A., Damiani, L. P., Barbosa, L. M., Santos, R. H. N., Laranjeira, L. N., Egydio, F. M., Borges de Oliveira, J. A., Dall Orto, F. T. C., Beraldo de Andrade, P., Bienert, I. R. C., Bosso, C. E., Mangione, J. A., Polanczyk, C. A., Sousa, A. G., M. R., Kalil, R. A. K., Santos, L. M., Sposito, A. C., Rech, R. L., Sousa, A. C. S., Baldissera, F., Nascimento, B. R., Giraldez, R. R. C. V., Cavalcanti, A. B., Pereira, S. B., Mattos, L. A., Armaganijan, L. V., Guimarães, H. P., Sousa, J. E. M. R., Alexander, J. H., Granger, C. B., & Lopes, R. D. (2018). Effect of loading dose of atorvastatin prior to planned percutaneous coronary intervention on major adverse cardiovascular events in acute coronary syndrome: The SECURE-PCI randomized clinical trial. *JAMA*, 319, 1331-1340. <http://doi.org/10.1001/jama.2018.2444>
- Bohula, E. A., Giugliano, R. P., Cannon, C. P., Zhou, J., Murphy, S. A., White, J. A., Terhakovec, A. M., Blazing, M. A., & Braunwald, E. (2015). Achievement of dual low-density lipoprotein cholesterol and high-sensitivity C-reactive protein targets more frequent with the addition of ezetimibe to simvastatin and associated with better outcomes in IMPROVE-IT. *Circulation*, 132, 1224-1233. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018381>
- Bohula, E. A., Wiviott, S. D., Giugliano, R. P., Blazing, M. A., Park, J.-G., Murphy, S. A., White, J. A., Mach, F., Van de Werf, F., Dalby, A. J., White, H. D., Terhakovec, A., Cannon, C. P., & Braunwald, E. (2017). Prevention of stroke with the addition of ezetimibe to statin therapy in patients with acute coronary syndrome in IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial). *Circulation*, 136, 2440-2450. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029095>
- Chan, K. L., Teo, K., Dumesnil, J. G., Ni, A., & Tam, J. (2010). Effect of Lipid lowering with rosuvastatin on progression of aortic stenosis: Results of the aortic stenosis progression observation: Measuring effects of rosuvastatin (ASTRONOMER) trial. *Circulation*, 121, 306-314. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.900027>
- Chew, E. Y., Ambrosius, W. T., Davis, M. D., Danis, R. P., Gangaputra, S., Greven, C. M., Hubbard, L., Esser, B. A., Lovato, J. F., Perdue, L. H., Goff, D. C. Jr., Cushman, W. C., Ginsberg, H. N., Elam, M. B., Genuth, S., Gerstein, H. C., Schubart, U., & Fine, L. J. (2010). Effects of medical therapies on retinopathy progression in type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine*, 363, 233-244. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1001288>
- Durazzo, A. E., Machado, F. S., Ikeoka, D. T., De Bernoche, C., Monachini, M. C., Puech-Leão, P., & Caramelli, B. (2004). Reduction in cardiovascular events after vascular surgery with atorvastatin: A randomized trial. *Journal of Vascular Surgery*, 39, 967-975; discussion 975-976. <http://doi.org/10.1016/j.jvs.2004.01.004>
- Emini Veseli, B., Perrotta, P., De Meyer, G. R. A., Roth, L., Van der Donckt, C., Martinet, W., & De Meyer, G. R. Y. (2017). Animal models of atherosclerosis. *European Journal of Pharmacology*, 816, 313. <http://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.05.010>
- Feinstein, M. J., Jhund, P., Kang, J., Ning, H., Maggioni, A., Wikstrand, J., Kjekshus, J., Tavazzi, L., McMurray, J., & Lloyd-Jones, D. M. (2015). Do statins reduce the risk of myocardial infarction in patients with heart failure? A pooled individual-level reanalysis of CORONA and GISSI-HF. *European Journal of Heart Failure*, 17, 434-441. <http://doi.org/10.1002/ehjhf.247>
- Flint, A. C., Conell, C., Ren, X., Kamel, H., Chan, S. L., Rao, V. A., & Johnston, S. C. (2017). Statin adherence is associated with reduced recurrent stroke risk in patients with or without atrial fibrillation. *Stroke*, 48, 1788-1794. <http://doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.017343>
- Giugliano, R. P., Pedersen, T. R., Park, J. G., De Ferrari, G. M., Gaciong, Z. A., Ceska, R., Toth, K., Gouni-Berthold, I., Lopez-Miranda, J., Schiele, F., Mach, F., Ott, B. R., Kanevsky, E., Pineda, A. L., Somaratne, R., Wasserman, S. M., Keech, A. C., Sever, P. S., & Sabatine, M. S. (2017). Clinical efficacy and safety of achieving very low LDL cholesterol concentrations with the PCSK9 inhibitor evolocumab: A prespecified secondary analysis of the

- FOURIER trial. *Lancet*, 390, 1962-1971. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32290-0](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32290-0)
- Golledge, J., Muller, J., Daugherty, A., & Nørman, P. (2006). Abdominal aortic aneurysm: Pathogenesis and implications for management. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 26, 2605-2613. <http://doi.org/10.1161/01.ATV.0000245819.32762.cb>
- Hackam, D. G., Wu, F., Li, P., Austin, P. C., Tobe, S. W., Mamdani, M. M., & Garg, A. X. (2011). Statins and renovascular disease in the elderly: A population-based cohort study. *European Heart Journal*, 32, 598-610. <http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq452>
- Hagiwara, N., Kawada-Watanabe, E., Koyanagi, R., Arashi, H., Yamaguchi, J., Nakao, K., Tobaru, T., Tanaka, H., Oka, T., Endoh, Y., Saito, K., Uchida, T., Matsui, K., & Ogawa, H.. (2017). Low-density lipoprotein cholesterol targeting with pitavastatin to ezetimibe for patients with acute coronary syndrome and dyslipidaemia: the HIJ-PROPER study, a prospective, open-label, randomized trial. *European Heart Journal*, 38, 2264-2276. <http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx162>
- Helkin, A., Stein, J. J., Lin, S., Siddiqui, S., Maier, K. G., & Gahtan, V. (2016). Dyslipidemia Part 1 – Review of lipid metabolism and vascular cell physiology. *Vasc and Endovascular Surgery*, 50, 107–118. <http://doi.org/10.1177/1538574416628654>
- Jarrett, M. J., Yao, Q., Venardos, N., Weyant, M. J., Reece, T. B., Meng, X., & Fullerton, D. A. (2019). Simvastatin down-regulates osteogenic response in cultured human aortic valve interstitial cells. *The Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery*, 31, S0022-5223(19)32381-5. <http://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2019.10.081>
- Kato, E. T., Cannon, C. P., Blazing, M. A., Bohula, E., Guneri, S., White, J. A., Murphy, S. A., Park, J. G., Braunwald, E., & Giugliano, R. P. (2017). Efficacy and safety of adding ezetimibe to statin therapy among women and men: insight from IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial). *Journal of the American Heart Association*, 6, e006901. <http://doi.org/10.1161/JAHA.117.006901>
- Kim, J. S., Kim, J., Choi, D., Lee, C. J., Lee, S. H., Ko, Y. G., Hong, M. K., Kim, B. K., Oh, S. J., Jeon, D. W., Yang, J. Y., Cho, J. R., Lee, N. H., Cho, Y. H., Cho, D. K., & Jang, Y. (2010). Efficacy of high-dose atorvastatin loading before primary percutaneous coronary intervention in ST segment elevation myocardial infarction: The STATIN STEMI trial. *JACC. Cardiovascular Interventions*, 3, 332-339. <http://doi.org/10.1016/j.jcin.2009.11.021>
- Kjekshus, J., Apetrei, E., Barrios, V., Böhm, M., Cleland, J. G., Cornel, J. H., Dunselman, P., Fonseca, C., Goudev, A., Grande, P., Gullestad, L., Hjalmarson, A., Hradec, J., Jánosi, A., Kamenský, G., Komajda, M., Korewicki, J., Kuusi, T., Mach, F., Mareev, V., McMurray, J. J., Ranjith, N., Schaufelberger, M., Vanhaecke, J., van Veldhuisen, D. J., Waagstein, F., Wedel, H., & Wikstrand, J. (2007). Rosuvastatin in older patients with systolic heart failure. *The New England Journal of Medicine*, 357, 2248-2261. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa0706201>
- Koskinas, K. C., Windecker, S., Buhayer, A., Gencer, B., Pedrazzini, G., Mueller, C., Cook, S., Muller, O., Matter, C. M., Räber, L., Heg, D., & Mach, F. (2018). Design of the randomized, placebo-controlled evolocumab for early reduction of LDL-cholesterol levels in patients with acute coronary syndromes (EVOPACS) trial. *Clinical Cardiology*, 41, 1513-1520. <http://doi.org/10.1002/clc.23112>
- Kureshi, F., Kennedy, K. F., Jones, P. G., Thomas, R. J., Arnold, S. V., Sharma, P., Fendler, T., Buchanan, D. M., Qintar, M., Ho, P. M., Nallamothu, B. K., Oldridge, N. B., & Spertus, J. A. (2016). Association between cardiac rehabilitation participation and health status outcomes after acute myocardial infarction. *JAMA Cardiology*, 1, 980-988. <http://doi.org/10.1001/jamacardio.2016.3458>
- Mach, F., Baigent, C., Catapano, A. L., Koskinas, K. C., Casula, M., Badimon, L., Chapman, M. J., De Backer, G. G., Delgado, V., Ference, B. A., Graham, I. M., Halliday, A., Landmesser, U., Mihaylova, B., Pedersen, T. R., Riccardi, G., Richter, D. J., Sabatine, M. S., Taskinen, M. R., Tokgozoglu, L., & Wiklund, O. (2020). 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *European Heart Journal*, 41, 111-188. <http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>
- Milin, A. C., Vorobiof, G., Aksoy, O., & Ardehali, R. (2014). Insights into aortic sclerosis and its relationship with coronary artery disease. *Journal of the American Heart Association*, 3(5), e001111. <http://doi.org/10.1161/JAHA.114.001111>
- Murphy, S. A., Cannon, C. P., Blazing, M. A., Giugliano, R. P., White, J. A., Lokhnygina, Y., Reist, C., Im, K., Bohula, E. A., Isaza, D., Lopez-Sendon, J., Dellborg, M., Kher, U., Tershakovec, A. M., & Braunwald, E. (2016). Reduction in total cardiovascular events with ezetimibe/simvastatin post-acute coronary syndrome: The IMPROVE-IT trial. *Journal of the American College of Cardiology*, 67, 353-361. <http://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.10.077>
- Navarese, E. P., Kowalewski, M., Andreotti, F., van Wely, M., Camaro, C., Kolodziejczak, M., Gorny, B., Wirianta, J., Kubica, J., Kelm, M., de Boer, M. J., & Suryapranata, H. (2014). Meta-analysis of time-related benefits of statin therapy in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention. *The American*

- Journal of Cardiology*, 113, 1753-1764. <http://doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.02.034>
- Nºvaro, G. M., Tiong, I. Y., Pearce, G. L., Lauer, M. S., Sprecher, D. L., & Griffin, B. P. (2001). Effect of hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors on the progression of calcific aortic stenosis. *Circulation*, 104, 2205-2209. <http://doi.org/10.1161/hc4301.098249>
- Ntaios, G., & Milionis, H. (2019). Low-density lipoprotein cholesterol lowering for the prevention of cardiovascular outcomes in patients with ischemic stroke. *International Journal of Stroke*, 14(5), 476-482. <http://doi.org/10.1177/1747493019851283>
- Page, R. L. 2nd, Miller, G. G., & Lindenfeld, J. (2005). Drug therapy in the heart transplant recipient: Part IV: Drug-drug interactions. *Circulation*, 111, 230-239. <http://doi.org/10.1161/01.CIR.0000151805.86933.35>
- Patti, G., Cannon, C. P., Murphy, S. A., Mega, S., Pasceri, V., Briguori, C., Colombo, A., Yun, K. H., Jeong, M. H., Kim, J. S., Choi, D., Bozbas, H., Kinoshita, M., Fukuda, K., Jia, X. W., Hara, H., Cay, S., & Di Sciascio, G. (2011). Clinical benefit of statin pretreatment in patients undergoing percutaneous coronary intervention: A collaborative patient-level meta-analysis of 13 randomized studies. *Circulation*, 123, 1622-1632. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.002451>
- Rossebø, A. B., Pedersen, T. R., Boman, K., Brudi, P., Chambers, J. B., Egstrup, K., Gerds, E., Gohlke-Bärwolf, C., Holme, I., Kesäniemi, Y. A., Malbecq, W., Nienaber, C. A., Ray, S., Skjaerpe, T., Wachtell, K., & Willenheimer, R. (2008). Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. *The New England Journal of Medicine*, 359, 1343-1356. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa0804602>
- Sabatine, M. S., De Ferrari, G. M., Giugliano, R. P., Huber, K., Lewis, B. S., Ferreira, J., Kuder, J. F., Murphy, S. A., Wiviott, S. D., Kurtz, C. E., Honarpour, N., Keech, A. C., Sever, P. S., & Pedersen, T. R. (2018). Clinical benefit of evolocumab by severity and extent of coronary artery disease. *Circulation*, 138, 756-766. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034309>
- Sahebkar, A., Di Giosia, P., Stamerra, C. A., Grassi, D., Pedone, C., Ferretti, G., Bacchetti, T., Ferri, C., & Giorgini, P. (2016). Effect of monoclonal antibodies to PCSK9 on high-sensitivity C-reactive protein levels: A meta-analysis of 16 randomized controlled treatment arms. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 81, 1175-1190. <http://doi.org/10.1111/bcp.12905>
- Schouten, O., Boersma, E., Hoeks, S. E., Benner, R., van Urk, H., van Sambeek, M. R., Verhagen, H. J., Khan, N. A., Dunkelgrun, M., Bax, J. J., & Poldermans, D. (2009). Fluvastatin and perioperative events in patients undergoing vascular surgery. *The New England Journal of Medicine*, 361, 980-989. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa0808207>
- Schwartz, G. G., Fayyad, R., Szarek, M., DeMicco, D., & Olsson, A. G. (2017). Early, intensive statin treatment reduces 'hard' cardiovascular outcomes after acute coronary syndrome. *European Journal of Preventive Cardiology*, 24, 1294-1296. <http://doi.org/10.1177/2047487317708677>
- Schwartz, G. G., Steg, P. G., Szarek, M., Bhatt, D. L., Bittner, V. A., Diaz, R., Edelberg, J. M., Goodman, S. G., Hanotin, C., Harrington, R. A., Jukema, J. W., Lecorps, G., Mahaffey, K. W., Moryusef, A., Pordy, R., Quintero, K., Roe, M. T., Sasiela, W. J., Tamby, J. F., Tricoci, P., White, H. D., & Zeiher, A. M. (2018). Alirocumab and cardiovascular outcomes after acute coronary syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 379, 2097-2107. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1801174>
- Smith, J. G., Luk, K., Schulz, C. A., Engert, J. C., Do, R., Hindy, G., Rukh, G., Dufresne, L., Almgren, P., Owens, D. S., Harris, T. B., Peloso, G. M., Kerr, K. F., Wong, Q., Smith, A. V., Budoff, M. J., Rotter, J. I., Cupples, L. A., Rich, S., Kathiresan, S., Orholm, M., Gudnason, V., O'Donnell, C. J., Post, W. S., & Thanassoulis, G. (2014). Association of low-density lipoprotein cholesterol-related genetic variants with aortic valve calcium and incident aortic stenosis. *JAMA*, 312, 1764-1771. <http://doi.org/10.1001/jama.2014.13959>
- Szumner, K., Wallentin, L., Lindhagen, L., Alfredsson, J., Erlinge, D., Held, C., James, S., Kellerth, T., Lindahl, B., Ravn-Fischer, A., Rydberg, E., Yndigegn, T., & Jernberg, T. (2017). Improved outcomes in patients with ST-elevation myocardial infarction during the last 20 years are related to implementation of evidence-based treatments: Experiences from the SWEDEHEART registry 1995-2014. *European Heart Journal*, 38, 3056-3065. <http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx515>
- Tabas, I., & Lichtman, A. H. (2017). Monocyte-macrophages and T cells in atherosclerosis. *Immunity*, 47, 621-634. <http://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.09.008>
- Tavazzi, L., Maggioni, A. P., Marchioli, R., Barlera, S., Franzosi, M. G., Latini, R., Lucci, D., Nicolosi, G. L., Porcu, M., & Tognoni, G. (2008). Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 372, 1223-1230. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61239-8](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61239-8)
- Tavazzi, L., Maggioni, A. P., Marchioli, R., Barlera, S., Franzosi, M. G., Latini, R., Lucci, D., Nicolosi, G. L., Porcu, M., Tognoni, G., & GISSI-HF Investigators (2008). Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the

GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* (London, England), 372(9645), 1223–1230. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61239-8](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61239-8)

Tendera, M., Aboyans, V., Bartelink, M. L., Baumgartner, I., Clément, D., Collet, J. P., Cremonesi, A., De Carlo, M., Erbel, R., Fowkes, F. G., Heras, M., Kownator, S., Minar, E., Ostergren, J., Poldermans, D., Riambau, V., Roffi, M., Röther, J., Sievert, H., van Sambeek, M., & Zeller, T. (2011). ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral artery diseases: Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries: The task force on the diag-

nosis and treatment of peripheral artery diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 32, 2851–2906. <http://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr211>

Tonelli, M., & Wanner, C. (2014). Lipid management in chronic kidney disease: Synopsis of the Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2013 clinical practice guideline. *Annals of Internal Medicine*, 160, 182–189. <http://doi.org/10.7326/M13-2453>

Tsimikas, S. (2017). A test in context: lipoprotein(a): Diagnosis, prognosis, controversies, and emerging therapies. *Journal of the American College of Cardiology*, 69, 692–711. <http://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.11.042>

Исследование влияния ультразвуковой обработки полиэтиленовых композиций, содержащих бетулин, на формирование эксплуатационных свойств упаковочных материалов

Кириш Ирина Анатольевна¹, Тверитникова Изабелла Сергеевна¹,
Безнаева Ольга Владимировна¹, Банникова Ольга Анатольевна¹,
Кондратова Тамара Александровна¹, Филинская Юлия Александровна¹,
Губанова Марина Ивановна¹, Фролова Юлия Владимировна²

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

² ФГБНУ «ФИЦ питания биотехнологии и безопасности пищи»

Корреспонденция, касающаяся этой статьи, должна быть адресована Кириш И.А., ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», адрес: 125080, Москва, Волоколамское ш., 11, e-mail: irina-kirsh@yandex.ru

В пищевой промышленности одной из основной проблемой является обеспечение качества и безопасности пищевых продуктов. Потери неупакованных продуктов питания, связанных с их порчей, могут достигать до 50%. Для того чтобы избежать таких потерь, в настоящее время актуальна тенденция создания упаковочных материалов с антимикробными свойствами, чтобы продлить срок годности пищевых продуктов. Поэтому целью работы явилось изучение влияния ультразвуковой обработки расплавов полимерных композиций с целью создания упаковочных материалов с антимикробными свойствами, обеспечивающих длительный срок хранения упакованных пищевых продуктов. В работе были поставлены такие задачи: провести комплексное исследование полученных полимерных материалов на основе полиэтилена, модифицированного экстрактом коры березы (ЭКБ); исследовать влияние ультразвуковой обработки на расплавы полученных полимерных композиций; исследовать влияние ультразвуковой обработки на приобретенные свойства полимерных смесей, модифицированных ЭКБ; рекомендовать полимерные композиции, позволяющие продлить срок годности пищевых продуктов. В качестве объектов исследования были выбраны материалы: полиэтилен и бетулин. Образцы получали на одношнековом лабораторном экструдере с ультразвуковой виброприставкой. В результате полученных исследований можно сделать следующие выводы: ультразвуковая обработка увеличивает текучесть расплавов полимерных композиций; ультразвуковая обработка расплавов полимерных композиций способствует получению материалов с равномерным распределением компонентов композиции; обработка расплавов исследуемых образцов увеличивает физико-механические свойства материалов, что заметно при сравнении относительного удлинения при разрыве с контрольными образцами; содержание ЭКБ от 1,0% и выше в составе полиэтилена обеспечивает получение упаковочных материалов с антимикробными свойствами.

Ключевые слова: полиэтилен, антимикробные свойства, экстракт коры березы, ультразвук, срок годности продуктов, реологические свойства

Введение

Обеспечение качества и безопасности пищевых продуктов является одной из основных проблем в пищевой промышленности (Нап, 2018). Потери неупакованных пищевых продуктов, связанных с их порчей, могут достигать до 50% (Galford, 2020). Совершенствование технологий производства и переработки, а также правильный подбор упаковочного материала позволяют существенно снизить данный показатель (Нап, 2018).

Безопасность пищевых продуктов, и животного, и растительного происхождения, в первую очередь определяется микробиологическими показателями, которые учитывают количественное, а также качественное содержание загрязняющих веществ химической, биологической и микробиологической природы.

ской природы (Batt, 2014). Потеря целостности пищевых продуктов - результат химической и микробиологической порчи, являющийся основным фактором ухудшения качества многих продуктов при производстве, транспортировке, переработке, хранении и реализации (Han, 2018; Matthews, 2019). Согласно статистике, 80% пищевых отравлений связано с наличием в продуктах санитарно-показательных, патогенных микроорганизмов, дрожжей, плесени и их токсинов. При попадании микроорганизмов на поверхность пищевого продукта, они развиваются, чему способствует благоприятная окружающая среда, ухудшая внешний вид, снижая вкусовые качества, химически взаимодействуя с компонентами, вызывая изменение белков и липидов, вырабатывая токсические вещества, вызывающие пищевые отравления, а также создавая благоприятные условия для роста бактерий (Abrunhosa, 2016; Lee, 2012).

В связи с этим, одной из актуальных тенденций в пищевой промышленности является создание упаковочных материалов с антимикробными свойствами. За последнее время разработано много упаковочных материалов на основе полимеров и покрытий с бактерицидными свойствами (Han, 2018; Zahra, 2016; Pobiega, 2019; Cazón, 2017; Fang, 2017; Jideani, 2016; Фролова, 2017). В качестве антимикробных средств используются вещества природного (Pobiega, 2019; Кирш, 2018; Gaikwad, 2019) и синтетического (Khaneghah, 2018; Huang, 2019) происхождения, в том числе наночастицы (Фролова, 2017; Otoni, 2016). В качестве барьерной упаковки часто используют материалы на основе полиолефинов (полиэтилен, полипропилен), такие пленки не обладают присущими им антимикробными свойствами (Фролова, 2017). Для придания бактерицидных характеристик полимерным материалам на основе полиолефинов используются различные подходы: поверхностная обработка полимерного материала антимикробными добавками (распыление на поверхность) с последующей фиксацией антимикробного агента на поверхности упаковки (Фролова, 2017) или введение антимикробных компонентов непосредственно в полимерную матрицу (Кирш, 2018; Khaneghah, 2018; Huang, 2019; Malhotra, 2015; Zhong, 2020; Liu, 2018). Использование подхода поверхностной обработки упаковочных материалов антимикробными агентами имеет существенный недостаток в том, что существует риск миграции антимикробного компонента в пищевой продукт, что может изменить его органолептические характеристики. Преимуществом данного метода является возможность использования термически нестабильных антимикробных добавок. При использовании данного вида упаковочного материала необходимо строго контролировать концен-

трацию и возможные условия миграции антимикробной добавки в продукт.

Получение упаковочных материалов с использованием второго подхода заключается в непосредственном смешивании добавки и полимера перед загрузкой в экструдер с последующим получением материала. Недостатком данного способа является возможность использования только термостойких антимикробных добавок. Также при смешивании добавки и полимера перед загрузкой в экструдер существует возможность неравномерного распределения антимикробного компонента в полимерной матрице готового материала.

Перспективной антимикробной добавкой, способной модифицировать свойства полиолефинов, является экстракт бересты (ЭКБ). ЭКБ () - многокомпонентная смесь, которая содержит бетулин, лупеол, лупенон, увеол, ацетат бетулина, аллобетулин, изобетулин, олеаноловую кислоту и др. (Dzubak, 2006). Экстракт коры березы известен своими антибактериальными, противовирусными, противовоспалительными и антимутагенными свойствами, а также своей устойчивостью к плесневым грибкам и бактериям (Dzubak, 2006; Amiri, 2020). ЭКБ устойчив к воздействию кислорода и солнечного света, и нетоксичен, что позволяет использовать его в полимерных материалах при контакте с пищевыми продуктами. Для интенсификации процесса получения полимерных материалов с заданным набором свойств, в том числе обладающих антимикробными свойствами, целесообразно использовать суперконцентраты (Chen, 2018; Sreekumar, 2014). Данная технология предусматривает получение упаковочного материала с модификатором в два этапа: получение суперконцентрата с последующим смешиванием его с полимерной основой и получением пленки. Такой подход позволяет получать полимерные материалы с более равномерным распределением добавок в полимерной матрице. Однако при высоких концентрациях бактерицидных компонентов вероятность их агломерации возрастает и, как следствие, возможно неравномерное распределение. Формирование структур с равномерным распределением компонентного состава может быть достигнуто дополнительным механическим перемешиванием, применением диспергаторов и др.

Кроме вышеупомянутых фактов, было установлено, что применение ультразвуковой обработки расплавов полимеров приобретает все больший практический и научный интерес (Kirsh, 2016; Kirsh, 2019). Проведенные работы по изучению влияния ультразвуковой обработки на расплавы полимерных композиций, содержащих сельскохозяйственные

отходы, показали увеличение равномерности распределения компонентов смеси даже при содержании наполнителя более 30%. Кроме того, установлено, что ультразвуковая обработка расплавов полимеров приводит к ускорению разрушения полимерной матрицы за счет увеличения содержания кислородсодержащих групп в полиэтилене и увеличения водопоглощения (Jimenez, 2013).

В данной работе для улучшения процесса диспергирования компонентов полимерных композиций был использован лабораторный экструдер с ультразвуковой обработкой расплавов полимеров, разработанный в университете.

Поэтому целью работы явилось изучение влияния ультразвуковой обработки расплавов полимерных композиций с целью создания упаковочных материалов с антимикробными свойствами, обеспечивающих длительный срок хранения упакованных пищевых продуктов.

В работе были поставлены задачи:

- провести комплексное исследование полученных материалов на основе полиэтилена, модифицированного экстрактом коры березы;
- исследовать влияние ультразвуковой обработки на расплавы полимерных композиций на основе полиэтилена и ЭКБ;
- исследовать влияние ультразвуковой обработки на приобретенные свойства полимерных композиций, модифицированных ЭКБ;
- рекомендовать полимерные композиции, позволяющие продлить срок годности пищевых продуктов.

Методика исследования

Материалы

В данной работе исследовались следующие полимерные композиции: пленочные материалы на основе полиэтилена и экстракта коры бересты (ПЭ/ЭКБ).

В работе использовали экстракт коры бересты (ЭКБ), зарегистрированный как биологически активная добавка в государственном реестре (свидетельство № 77.99.23.3.У.3440.4.08 от 29.04.2008 г.), полиэтилен высокого давления (ПЭ) марки Казпэлен 15813-20.

Контрольными образцами служили материалы на основе ПЭ и ЭКБ без УЗ воздействия и чистый ПЭ не содержащий ЭКБ.

Оборудование

Получение образцов пленок на основе ПЭ с ЭКБ осуществляли в две стадии:

- 1) получение ПЭ с ЭКБ в виде гранул с размером гранул в диаметре 3 мм и длиной 6 мм;
- 2) получение пленочного материала из гранул ПЭ с ЭКБ.

Толщина пленки 62 ± 2 мкм.

Для получения гранул и пленочного материала использовали лабораторный экструдер с ультразвуковой обработкой расплава при температуре переработки $190 \pm 30^\circ\text{C}$, разработанный в университете. Ультразвуковая обработка расплава полимерных композиций составляла 22,4 кГц.

Методы

В работе использовались следующие методы исследования:

- на реологические свойства полимерных композиций, методом капиллярной вискозиметрии, определяя показатель текучести расплава термопластов (ГОСТ 1645-73);
- на физико-механические свойства полимерных материалов методом испытания на растяжение (ГОСТ 14236-81);
- на визуальную оценку внешнего вида исследуемых пленочных материалов исследовали при помощи светового цифрового микроскопа Bresser (Германия);
- на структурно-морфологические свойства образцов изучали с использованием сканирующего электронного микроскопа JSM-U3, Япония;
- оценку антимикробных свойств полимерных материалов проводили диско-диффузионным методом (ASTM D1653-2013; МУК 4.2.1890-04);
- санитарно-химические исследования полимерных материалов проводили в универсальной модельной среде (дистиллированной воде) (МУ 4149-86).

Процедура исследования

Внешний вид полимерных материалов

Визуальная оценка разработанных пленок была проведена с целью определения цвета наружной и внутренней поверхностей; оценка поверхности образца для выявления трещин, наплывов, неровностей, шероховатости. Микрофотографии поверхности получали с помощью светового цифрового

микроскопа Bresser (Германия) при увеличении $\times 200$. Структурно-морфологические свойства образцов изучали с использованием сканирующего электронного микроскопа JSM-U3, Япония.

Реологические исследования

Эксперимент проводился на приборе типа ИИРТ, предназначенном для лабораторного определения индекса расплава термопластов в порошкообразном, гранулированном прессованном виде. В соответствии с требованием ГОСТ 1645-73 установка ИИРТ определяет показатель текучести расплава пластмасс. Она измеряет массу пластмасс, при помощи выдавливания через капилляр при определенном давлении и температуры в экструзионной камере.

Необходимая для испытания эластомера температура создается в экструзионной камере электрическим нагревателем и поддерживается с заданной точностью с помощью автоматического регулятора температуры.

Необходимое давление на материал создается с помощью поршня с грузом, вместе составляющим весом 2,16 кг. Конструкция выдавливающего устройства позволяет работать на приборе при постоянной подвеске груза, что облегчает проведение эксперимента.

Одним из реологических свойств можно отнести вязкостные свойства. Оценка вязкостных свойств проводится по перерасчету показателя текучести расплава (ПТР).

Определение физико-механических свойств

Исследования образцов полимерных материалов проводили на универсальной испытательной машине РМ-50 с фиксацией разрушающего напряжения и относительного удлинения при разрыве. Скорость растяжения материалов составляла 10 мм/сек.

Определение антимикробных свойств

Оценку антимикробных свойств полимерных материалов проводили диско-диффузионным методом^{1,2} в отношении *Escherichia coli*, *Candida albicans*, плесневых грибов рода *Penicillium* spp., выделенных с поверхности пищевой продукции. Общее время инкубации материалов с микроорганизмами со-

ставляло 168 ч. Образцы материалов вырезались в виде дисков диаметром 20 мм и выкладывались на твердую питательную среду, зараженную микроорганизмами. Чашки Петри с *E. coli*, *C. albicans* и образцами инкубировались при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$, с плесневыми грибами при $27 \pm 1^\circ\text{C}$. Промежуточную визуальную оценку проводили через 24 ч, 48 ч, 72 ч и 168 ч. Визуально оценивали развитие микроорганизмов на поверхности материалов и наличие зоны ингибирования роста.

Санитарно-химические исследования

Органолептическую оценку проводили в универсальной модельной среде (дистиллированной воде). Очищенный полимерный материал погружали в модельную среду в соотношении 1:1 и выдерживали при температурах 20°C , 40°C и 60°C в течение 7 суток, 14 суток, 21 сутки и 28 суток. Визуально оценивали наличие осадка, мути, изменение цвета модельной среды и материала, интенсивность запаха водной вытяжки.

Количественную оценку миграции низкомолекулярных веществ из полимерных материалов в модельные среды: 2,0% лимонная кислота; 3,0% молочная кислота; 0,3% солевой раствор хлорида натрия, проводили стандартным газохроматографическим методом. Содержание формальдегида оценивали фотометрическим методом.

Результаты

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics Ver. 20 (SPSS Inc. США).

На первом этапе определяли внешний вид полученных полимерных пленок, представленные на Рисунке 1.

На Рисунке 2, 3 представлена структура поверхности полимерных смесей на основе ПЭ и ЭКБ в количестве 2% (Рис. 2) и 5% (Рис. 3), полученных с ультразвуковой обработкой (а) и без ультразвука (б).

На втором этапе определяли зависимость показателя текучести расплава от концентрации ЭКБ и ультразвука (Рис. 4).

¹ ASTM D1653-2013. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Organic Coating Films; ASTM International: West Conshohocken, PA (2013).

² МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания. Дата введения: с момента утверждения (2004).

Рисунок 1

Внешний вид полученных полимерных материалов, содержащих 0%, 0,5%, 1%, 2% и 5% ЭКБ с и без УЗ: (а) 0% ЭКБ без УЗ; (б) 0% ЭКБ УЗ; (с) 0,5% ЭКБ без УЗ; (д) 0,5% ЭКБ УЗ; (е) 1% ЭКБ без УЗ; (ф) 1% ЭКБ УЗ; (г) 2% ЭКБ без УЗ; (х) 2% ЭКБ УЗ; (и) 5% ЭКБ без УЗ; (ж) 5% ЭКБ УЗ

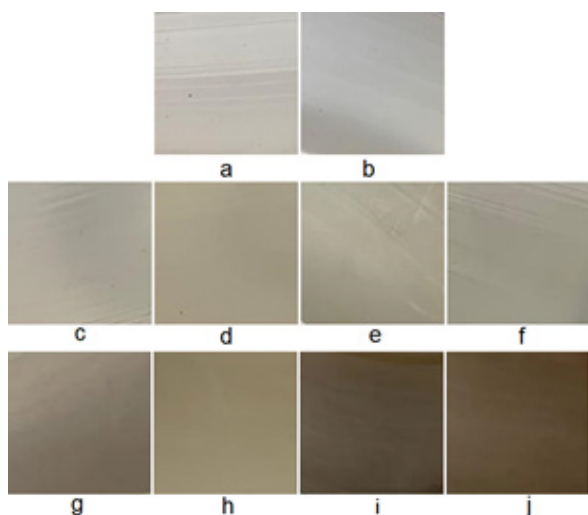


Рисунок 2

Структура поверхности композиции на основе ПЭ и бетулина в количестве 2%, полученной с УЗ обработкой (а) и без УЗ (б)

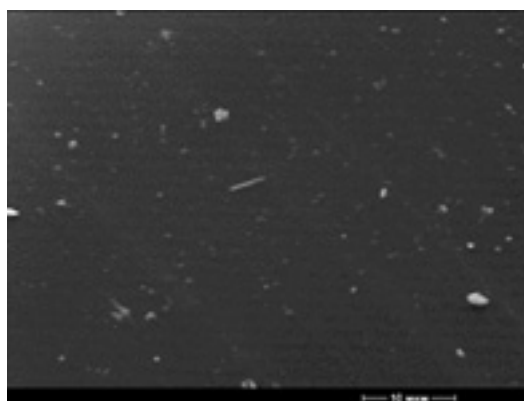
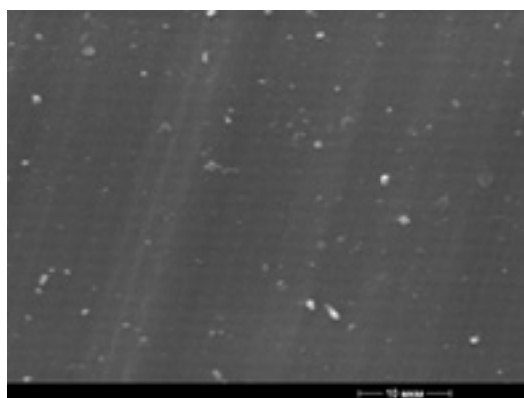
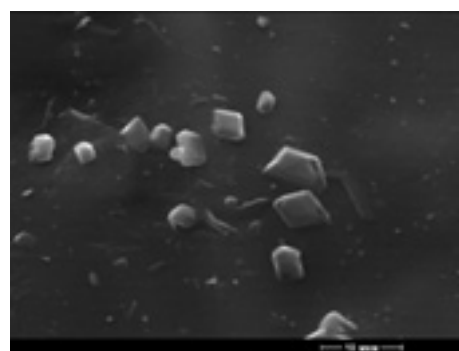
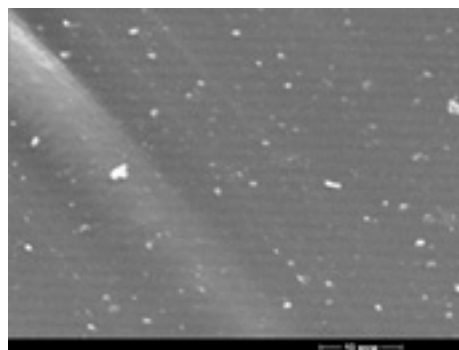


Рисунок 3

Структура поверхности композиции на основе ПЭ и бетулина в количестве 5%, полученной с УЗ обработкой (а) и без УЗ (б)



Оценку влияния концентрации ЭКБ и ультразвука на физико-механические свойства проводили по двум показателям: разрушающее напряжение и относительное удлинение при разрыве. Полученные результаты представлены на Рисунках 5 и 6.

Результаты оценки антимикробных свойств, исследуемых образцов материалов в отношении к *E. coli*, *C. albicans*, *Penicillium spp.*, представлены в Таблице 1.

На Рисунке 7 представлен пример внешнего вида полимерных материалов под воздействием *C. albicans* в течение 24 ч. с содержанием ЭКБ 0%, обработанных УЗ, (Рис. 7, а) и с содержанием ЭКБ 1%, обработанных УЗ, (Рис. 7, б).

Полученные материалы, предназначенные для контакта с пищевыми продуктами, были исследованы на предмет миграции низкомолекулярных веществ.

Результаты исследования миграции низкомолекулярных веществ из материалов представлены в Таблице 2.

На следующем этапе работы проведена оценка миграции метилового спирта из полимерного компо-

Рисунок 4

Зависимость показателя текучести расплава от содержания ЭКБ и ультразвуковой обработки

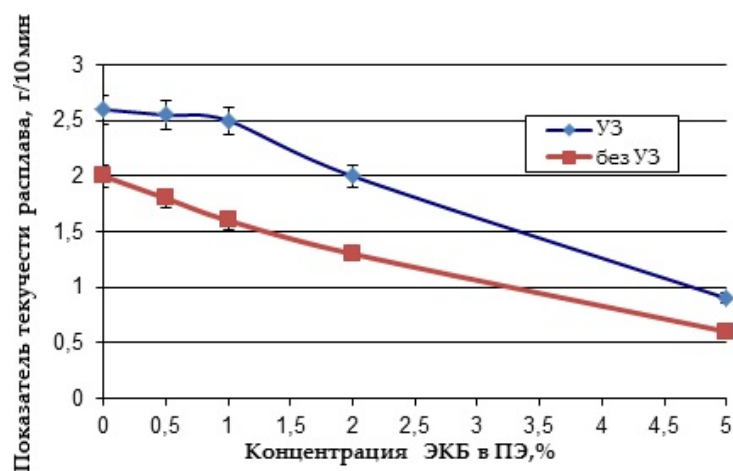


Рисунок 5

Зависимость разрушающего напряжения от концентрации ЭКБ и ультразвуковой обработки

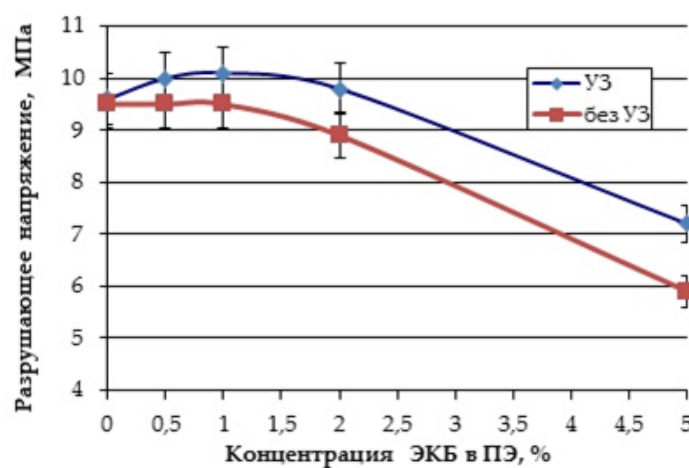


Рисунок 6

Зависимость относительного удлинения при разрыве от концентрации ЭКБ и ультразвуковой обработки

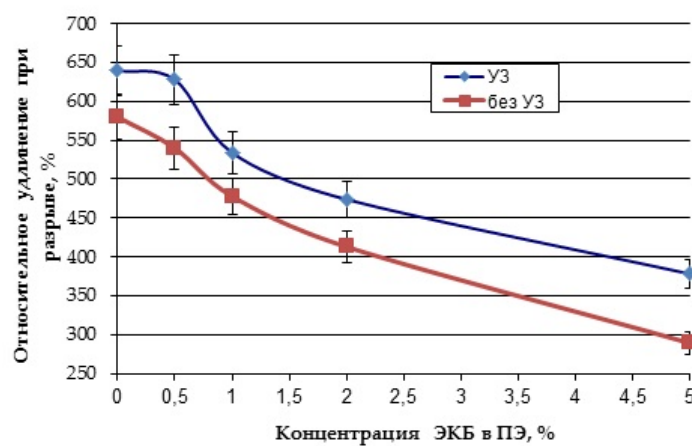


Таблица 1

Результаты визуальной оценки антимикробных свойств, исследуемых образцов пленки в течение 24-48 ч

Образцы пленок	Визуальная оценка*			Примечание
	E.coli	C. albicans	Penicillium spp	
0% ЭКБ без УЗ	+	+	+	Рост на поверхности
0% ЭКБ УЗ	+	+	+	Рост на поверхности
0,5% ЭКБ без УЗ	+/-	+/-	+/-	Рост на поверхности
0,5% ЭКБ УЗ	+/-	+/-	+/-	Рост на поверхности
1,0% ЭКБ без УЗ	-	-	-	Отсутствие зон ингибирования
1,0% ЭКБ УЗ	-	-	-	Отсутствие зон ингибирования
2,0% ЭКБ без УЗ	-	-	-	Отсутствие зон ингибирования
2,0% ЭКБ УЗ	-	-	-	Отсутствие зон ингибирования
5,0% ЭКБ без УЗ	-	-	-	Зона ингибирования
5,0% ЭКБ УЗ	-	-	-	Зона ингибирования

Примечание.*«+» – рост микроорганизмов на поверхности образцов; «+/-» – замедленный рост микроорганизмов на поверхности образцов; «-» – отсутствие роста микроорганизмов на поверхности образцов

Рисунок 7

Пример внешнего вида полимерных материалов под воздействием *C. albicans* в течение 24 ч.: А) 0% ЭКБ УЗ; В) 1% ЭКБ УЗ

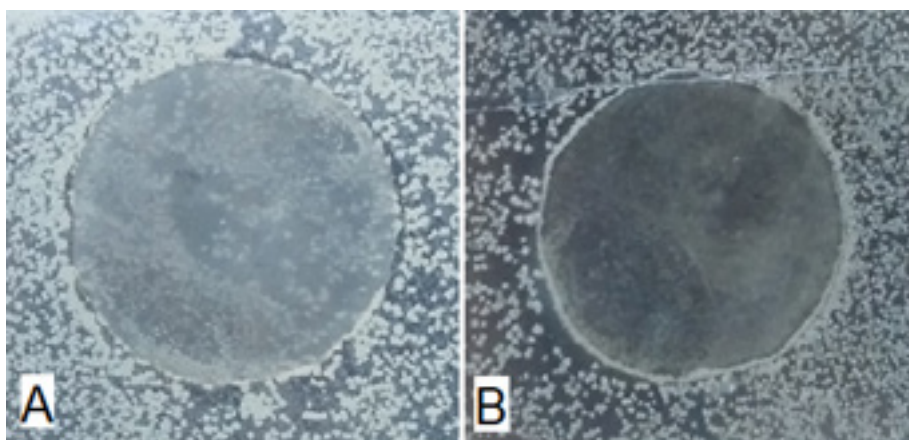


Таблица 2

Результаты санитарно-химических исследований вытяжек из образца ПЭ 2,0% ЭКБ УЗ в различных модельных средах

Наименование показателя	Норма	Фактические значения		
		Время экспозиции 10 суток		
		Лимонная кислота 2,0%	Молочная кислота 3,0%	Солевой раствор NaCl 0,3%
Ацетальдегид, мг/дм ³	Не более 0,2	Менее 0,05	Менее 0,05	Менее 0,05
Этилацетат, мг/дм ³	Не более 0,1	Менее 0,05	Менее 0,05	Менее 0,05
Гексан, мг/дм ³	Не более 0,1	Менее 0,005	Менее 0,005	Менее 0,005
Гептан, мг/дм ³	Не более 0,1	Менее 0,005	Менее 0,005	Менее 0,005

Таблица 2

Наименование показателя	Норма	Фактические значения		
		Время экспозиции 10 суток		
		Лимонная кислота 2,0%	Молочная кислота 3,0%	Солевой раствор NaCl 0,3%
Ацетон, мг/ дм ³	Не более 0,1	Менее 0,05	Менее 0,05	Менее 0,05
Формальдегид, мг/ дм ³	Не более 0,1	Менее 0,025	Менее 0,025	Менее 0,025
Метиловый спирт, мг/ дм ³	Не более 0,2	0,08	0,12	0,17
Бутиловый спирт, мг/ дм ³	Не более 0,5	Менее 0,05	Менее 0,05	Менее 0,05
Изобутиловый спирт, мг/ дм ³	Не более 0,5	Менее 0,05	Менее 0,05	Менее 0,05
Пропиловый спирт, мг/дм ³	Не более 0,1	Менее 0,05	Менее 0,05	Менее 0,05
Изопропиловый спирт, мг/дм ³	Не более 0,1	Менее 0,05	Менее 0,05	Менее 0,05

зиционного материала с антимикробной добавкой (ПКМ АД) при использовании модельной среды из 3,0% раствора молочной кислоты за время экспозиции 10 суток (Табл.3).

Таблица 3

Значения метилового спирта из ПКМ АД при использовании модельной среды из 3,0% раствора молочной кислоты

Содержание бетулина в ПКМ, %	Количество метилового спирта, мг/ дм ³
0	0,05
0,5	0,08
1	0,12
2	0,14
5	0,18

Обсуждение полученных результатов

При определении внешнего вида исследуемых образцов можно сказать, что включение ЭКБ в состав полимерной матрицы полиэтилена приводит к изменению цвета получаемых материалов. При низких концентрациях (1-2% ЭКБ) пленки обладали небольшой желтизной (Figure 1e-h), а при высоких концентрациях (5% ЭКБ) цвет пленок приобретал коричневый оттенок (Рис. 1).

Образцы пленок, полученных без обработки ультразвука (УЗ) расплава, отличались наличием

агломерированного наполнителя, с увеличением содержания ЭКБ количество агломератов увеличилось, что доказано методом электронной микроскопии (Рис. 6 и 7).

Использование УЗ обработки расплава полимера при получении материалов с ЭКБ позволили получать более прозрачные образцы с более равномерным распределением добавки в материале.

На основании проведенных реологических исследований можно увидеть, что обработка УЗ расплавов приводит к увеличению ПТР чистого полиэтилена и композиций с ЭКБ.³ Увеличение значения ПТР под воздействием УЗ связано с особенностями воздействия УЗ на расплавы полимера, как представлено в стандарте.⁴ Увеличение содержания ЭКБ в составе ПЭ приводит к уменьшению ПТР, это связано с тем, что ЭКБ введенный в полимер ведет себя как «наполнитель-полимер».

Из полученных данных по третьему этапу по исследованию деформационно-прочностных характеристик, установлено, что с увеличением концентрации ЭКБ в составе полимерного материала на основе ПЭ разрушающее напряжение и относительное удлинение при разрыве также увеличивается, что связано с распределением ЭКБ в структуре ПЭ и нарушением целостности его первичной структуры. Ультразвуковая обработка расплавов при получении полимерных материалов приводит к увеличению показателей разрушающего напряжения и относительного удлинения

³ ISO 16929:2019 (International Standard 2019). Plastics–Determination of the Degree of Disintegration of Plastic Materials under Defined Composting Conditions in a Pilot-Scale Test; ISO: Geneva, Switzerland (2019).

⁴ ISO 4833-1:2013 (International Standard 2013). Microbiology of the Food Chain – Horizontal Method for the Enumeration of Microorganisms – Part 1: Colony Count at 30 Degrees C by the Pour Plate Technique; ISO: Geneva, Switzerland (2013).

при разрыве в 1,5 раза по сравнению с контрольными образцами. Это связано с тем, что при ультразвуковой обработке происходит равномерное распределение добавки. Низкое содержание ЭКБ (до 1%) в составе полимерного материала практически не влияет на физико-механические свойства.

В результате оценки антимикробных свойств, исследуемых образцов материалов установлено, что УЗ обработка расплавов при выработке материалов не влияет на их антимикробные свойства. Выявлена зависимость антимикробной активности от концентрации ЭКБ в составе полимерной матрице. В отношении *C. albicans* уже после 24 ч экспозиции наблюдали рост культур на поверхности контрольных образцов, не содержащих ЭКБ (Рис. 7, а).

Закономерность антимикробных свойств материалов с ЭКБ по сравнению с контрольными образцами (Рис. 7), наблюдали для всех культур микроорганизмов: *E. coli*, *C. albicans*, *Penicillium spp.* При концентрации ЭКБ 0,5 % в течение 24 ч наблюдали подавление роста культур на поверхности материалов, однако по истечении 48 ч происходил рост на поверхности. Развитие *Penicillium spp.* происходило с некоторой задержкой, по сравнению с *E. coli* и *C. albicans*, что связано с особенностями скорости роста микроорганизмов (Kirsh, 2016), в связи с этим развитие плесневых грибов оценивали после 48 ч. Для материалов, содержащих 1% и 2% ЭКБ, характерно отсутствие роста микроорганизмов на их поверхности в течение 168 ч экспозиции. В связи с этим, материалы, содержащие 1% и 2% ЭКБ, обладают бактериостатическими и фунгистатическими свойствами. Увеличение содержания ЭКБ до 5% приводит к появлению зоны ингибирования ($3,0 \pm 0,5$ мм), что может свидетельствовать о миграции ЭКБ в агаризованную среду.

При проведении санитарно-химических исследований путем органолептического опыта при температурах 20°C, 40°C и 60°C в течение 7 суток, 14 суток, 21 суток и 28 суток показали, что в анализируемых вытяжках из всех материалов отсутствует осадок, муть и нет изменения цвета вытяжек. Однако было отмечено усиление интенсивности запаха из материалов с повышением концентрации ЭКБ и температуры до 60°C, при этом среднее значение составляло не более 1 балла, что допускается для материалов, контактирующих с пищевыми продуктами.

При использовании модельной среды 3,0% раствор молочной кислоты, наблюдается увеличение миграции метилового спирта и формальдегида, хотя его значение не превышает допустимых норм (Табл. 2).

Из полученных результатов оценки миграции метилового спирта из ПКМ АД при использовании модельной среды из 3,0% раствора молочной кислоты видно, что выделение метилового спирта от концентрации бетулина в ПКМ увеличивается, но не превышает нормы, указанные в ТР ТС 005/2011, не более 0,2.⁵

Исследование миграции низкомолекулярных компонентов из разработанных материалов с ЭКБ показывают, что мигрирующие вещества не превышают допустимых норм. Установлено, что УЗ обработка расплава и содержание добавки в концентрации до 5% не влияют на образование низкомолекулярных веществ, способных мигрировать в пищевой продукт при их контакте.

На основании проведенных реологических, физико-механических, антимикробных и санитарно-химических исследований предлагается использовать в качестве упаковочного материала для контакта с пищевыми продуктами ПЭ содержащий 2 % ЭКБ с УЗ. Данный материал, обладает достаточными физико-механическими показателями, обладает антимикробными свойствами, соответствует санитарно-химическим нормам, использование УЗ позволяет получить материал с равномерно распределенной добавкой, а содержание 2% ЭКБ обосновано экономическим фактором.

Заключение

Были проведены исследования по изучению влияния ультразвуковой обработки расплавов полимерных композиций с антимикробными свойствами, в результате можно отметить:

- были получены упаковочные материалы в виде пленок на основе полимерных композиций;
- сравнение идентичных составов ПКМ, полученных с ультразвуковой обработкой расплава и без обработки, позволило выявить, что ультразвуковая обработка увеличивает текучесть расплавов полимерных композиций;
- методом электронной микроскопии установлено, что ультразвуковая обработка расплавов полимерных композиций способствует получению

⁵ ТР ТС 005/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности упаковки» (2011).

материалов с равномерным распределением компонентов композиции, что показано на примере образца ПЭ, содержащего 2% и 5% ЭКБ;

- установлено, что обработка расплавов ПКМ увеличивает физико-механические свойства материалов, что особенно хорошо заметно при сравнении относительного удлинения при разрыве. Значения данного показателя примерно в 1,5–2 раза больше для ПКМ, полученных с ультразвуковой обработкой расплава по сравнению с контрольными образцами;
- определено, что содержание ЭКБ от 1,0% и выше в составе ПЭ обеспечивает получение упаковочных материалов с антимикробными свойствами.

Литература

- Кириш, И. А., Фролова, Ю. В., & Мясенко, Д. М. (2018). Упаковочные материалы для пищевых продуктов с антимикробным компонентом натурального происхождения. *Пищевая промышленность*, 1, 24 - 25.
- Фролова, Ю. В., Кириш, И. А., Безнаева, О. В., Помогова, Д. А., & Тихомиров, А. А. (2017). Создание полимерных упаковочных материалов с антимикробными свойствами. *Химия и биотехнология*, 7, 145 - 152.
- Abrunhosa, L., Morales, H., Soares, C., Calado, T., Vila-Chã, A. S., Pereira, M., & Venâncio, A. (2016). A review of mycotoxins in food and feed products in Portugal and estimation of probable daily intakes. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56, 249–265.
- Amiri, S., Dastghaib, S., Ahmadi, M., Mehrbod, P., Khadem, F., Behrooj, H., Aghanoori, M. R., Machaj, F., Ghamsari, M., & Rosik, J. (2020). Betulin and its derivatives as novel compounds with different pharmacological effects. *Biotechnology*, 38, 107409. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.06.008>
- Batt, C. A., & Tortorello, M. L. (2014). *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00416-X>
- Cazón, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A., & Vázquez, M. (2017). Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. *Food Hydrocoll*, 68, 136–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.009>
- Chen, C. Y., Gu, J., Weng, Y. X., Huang, Z. G., Qiu, D., & Shao, S. X. (2018). Optimization of the preparation process of biodegradable masterbatches and characterization of their rheological and application properties. *Polymer Testing*, 70, 526–532.
- Dzubak, P., Hajdуч, M., Vydra, D., Hustova, A., Kvasnica, M., Biedermann, D., Markova, L., Urban, M., & Sarek, J. (2006). Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. *Natural Product Reports*, 23, 394–411. <https://doi.org/10.1039/b515312n>
- Fang, Z., Zhao, Y., Warner, R. D., & Johnson, S. K. (2017). Active and intelligent packaging in meat industry. *Trends in Food Science and Technology*, 61, 60–71. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.01.002>
- Gaikwad, K. K., Singh, S., & Lee, Y. S. (2019). Antimicrobial and improved barrier properties of natural phenolic compound-coated polymeric films for active packaging applications. *Journal of Coatings Technology and Research*, 16, 147 - 157. <https://doi.org/10.1007/s11998-018-0109-9>
- Galford, G. L., Peña, O., Sullivan, A. K., Nash, J., Gurwick, N., Pirolli, G., Richards, M., White, J., & Wollenberg, E. (2020). Agricultural development addresses food loss and waste while reducing greenhouse gas emissions. *Science of The Total Environment*, 699, 134318.
- Han, J. W., Ruiz-Garcia, L., Qian, J. P., & Yang, X. T. (2018). Food packaging: A comprehensive review and future trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17, 860–877. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12343>
- Huang, T., Qian, Y., Wei, J., & Zhou, C. (2019). Polymeric Antimicrobial Food Packaging and Its Applications. *Polymers*, 11, 560. <https://doi.org/10.3390/polym11030560>
- Jideani, V. A., & Vogt, K. (2016). Antimicrobial packaging for extending the shelf life of bread — A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56, 1313–1324.
- Jimenez, A., Aneli, J.N., & Kubica, S. (2013). *Chemistry and Physics of Modern Materials: Processing, Production and Applications* (pp. 235 - 251). Apple Academic Press. <https://doi.org/10.1201/b15299>
- Khaneghah, A. M., Hashemi, S. M. B., & Limbo, S. (2018). Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. *Food and Bioproducts Processing*, 111, 1 - 19.
- Kirsh, I. A., Babin, Yu. V., Ananiev, V. V., Tveriynikova, I. S., Romanova, V. A., Bannikova, O. A., & Beznaeva, O. V. (2019). Establishing the Dependence of the Effect of Ultrasound on Pkm Melts and their Functional Technological Characteristics. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy Tekhnologiya Tekstil'noy Promyshlennosti*, 2, 85 - 90.
- Kirsh, I. A., Chalykh, T. I., & Pomogova, D. A. (2016). Modification of polymers and mixtures of incompatible polymers by exposure of their melts to ultrasound. *Journal Characterization and Development of Novel Materials*, 8, 119.
- Lee, K., Watanabe, M., Sugita-Konishi, Y., Hara-Kudo, Y., & Kumagai, S. (2012). *Penicillium camemberti* and *Penicillium roqueforti* enhance

- the growth and survival of Shiga toxin producing *Escherichia coli* O157 under mild acidic conditions. *Journal of Food Science*, 77, 102 - 107. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02533.x>
- Liu, Y., Liang, X., Wang, S., Qin, W., & Zhang, Q. (2018). Electrospun antimicrobial polylactic acid/tea polyphenol nanofibers for food packaging applications. *Polymers*, 10, 561. <https://doi.org/10.3390/polym10050561>
- Malhotra, B., Keshwani, A., & Kharkwal, H. (2015). Antimicrobial food packaging: Potential and pitfalls. *Frontiers In Microbiology*, 6, 611. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00611>
- Matthews, K. R., Kniel, K. E., & Montville, T. J. (2019). *Food Microbiology: An Introduction* (pp. 55-75). ASM Press.
- Otoni, C. G., Espitia, P. J., Avena-Bustillos, R. J., & McHugh, T. H. (2016). Trends in antimicrobial food packaging systems: Emitting sachets and absorbent pads. *Food Research International*, 83, 60 - 73. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.02.018>
- Pobiega, K., Kraśniewska, K., & Gniewosz, M. (2019). Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 83, 53 - 62.
- Sreekumar, P. A., Elanamugilan, M., Singha, N. K., Al-Harthi, M. A., De, S. K., & Al-Juhani, A. (2014). LDPE filled with LLDPE/Starch masterbatch: Rheology, morphology and thermal analysis. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 39, 8491–8498.
- Zahra, S. A., Butt, Y. N., Nasar, S., Akram, S., Fatima, Q., & Ikram, J. (2016). Food Packaging in Perspective of Microbial Activity: A Review. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 6, 752 - 757. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2016.6.2.752-757>
- Zhong, Y., Godwin, P., Jin, Y., & Xiao, H. (2020). Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, 3, 27-35. <https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2019.11.002>

Investigation of the Effect of Ultrasonic Treatment of Polyethylene Compositions Containing Betulin

Irina A. Kirsh¹, Izabella S. Tveritnikova¹, Olga V. Beznaeva¹, Olga A. Bannikova¹, Tamara A. Kondratova¹, Yulia A. Filinskaya¹, Marina I. Gubanova¹, Yuliya V. Frolova¹

¹ *Moscow State University of Food Production*

Correspondence concerning this article should be addressed to Irina A. Kirsh, Moscow State University of Food Production, 11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation, e-mail: irina-kirsh@yandex.ru

In the food industry, one of the main problems is to ensure the quality and safety of food products. Losses of unpackaged food products associated with their spoilage can reach up to 50%. In order to avoid such losses, the current trend is to create packaging materials with antimicrobial properties to extend the shelf life of food products. Therefore, the aim of the work was to study the effect of ultrasonic treatment of melts of polymer compositions in order to create packaging materials with antimicrobial properties that provide a long shelf life of packaged food products. The following tasks were set: to conduct a comprehensive study of the obtained polymer materials based on polyethylene modified with birch bark extract (ECB); to investigate the effect of ultrasonic treatment on the melts of the obtained polymer compositions; to investigate the effect of ultrasonic treatment on the acquired properties of polymer mixtures modified with ECB; to recommend polymer compositions that allow extending the shelf life of food products. The materials chosen for the study were polyethylene and betulin. The samples were obtained on a single-screw laboratory extruder with an ultrasonic vibrating attachment. As a result of the obtained studies, the following conclusions can be drawn: ultrasonic treatment increases the fluidity of melts of polymer compositions; ultrasonic melt processing polymer compositions contributes to obtaining materials with a uniform distribution of the components of the composition; the melt processing of samples increases the physico-mechanical properties of materials, which is noticeable when comparing the relative elongation at break with control samples; the content of electronic components from 1.0% above the polyethylene composition provides obtaining packaging materials with antimicrobial properties.

Key words: polyethylene, antimicrobial properties, birch bark extract, ultrasound, shelf life of products, rheological properties

References

- Kirsh, I. A., Frolova, Yu. V., & Myalenko, D. M. (2018). Packaging materials for food products with an antimicrobial component of natural origin. *Pishchevaya promyshlennost'* [Food industry], 1, 24-25.
- Frolova, Yu. V., Kirsh, I. A., Beznaeva, O. V., Pomo-gova, D. A., & Tikhomirov, A. A. (2017). Creation of polymer packaging materials with antimicrobial properties. *Himiya i biotekhnologiya* [Chemistry and Biotechnology], 7, 145-152.
- Abrunhosa, L., Morales, H., Soares, C., Calado, T., Vila-Chã, A. S., Pereira, M., & Venâncio, A. (2016). A review of mycotoxins in food and feed products in Portugal and estimation of probable daily intakes. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56, 249-265.
- Amiri, S., Dastghaib, S., Ahmadi, M., Mehrbod, P., Khadem, F., Behrooj, H., Aghanoori, M. R., Machaj, F., Ghamsari, M., & Rosik, J. (2020). Betulin and its derivatives as novel compounds with different pharmacological effects. *Biotechnology*, 38, 107409. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.06.008>
- Batt, C. A., & Tortorello, M. L. (2014). *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00416-X>
- Cazón, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A., & Vázquez, M. (2017). Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. *Food Hydrocoll*, 68, 136-148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.009>
- Chen, C. Y., Gu, J., Weng, Y. X., Huang, Z. G., Qiu, D., & Shao, S. X. (2018). Optimization of the preparation process of biodegradable masterbatches and characterization of their rheological and application properties. *Polymer Testing*, 70, 526-532.

How to Cite

Kirsh, I. A., Tveritnikova, I. S., Beznaeva, O. V., Bannikova, O. A., Kondratova, T. A., Filinskaya, Y. A., Gubanova, M. I., & Frolova, Y. V. (2020). Investigation of the effect of ultrasonic treatment of polyethylene compositions containing betulin. *Health, Food & Biotechnology*, 2(4). <https://doi.org/10.36107/hfb.2020.i4.s74>

- Dzubak, P., Hajduch, M., Vydra, D., Hustova, A., Kvasnica, M., Biedermann, D., Markova, L., Urban, M., & Sarek, J. (2006). Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. *Natural Product Reports*, 23, 394–411. <https://doi.org/10.1039/b515312n>
- Fang, Z., Zhao, Y., Warner, R. D., & Johnson, S. K. (2017). Active and intelligent packaging in meat industry. *Trends in Food Science and Technology*, 61, 60–71. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.01.002>
- Gaikwad, K. K., Singh, S., & Lee, Y. S. (2019). Antimicrobial and improved barrier properties of natural phenolic compound-coated polymeric films for active packaging applications. *Journal of Coatings Technology and Research*, 16, 147 - 157. <https://doi.org/10.1007/s11998-018-0109-9>
- Galford, G. L., Peña, O., Sullivan, A. K., Nash, J., Gurwick, N., Pirolli, G., Richards, M., White, J., & Wollenberg, E. (2020). Agricultural development addresses food loss and waste while reducing greenhouse gasemissions. *Science of The Total Environment*, 699, 134318.
- Han, J. W., Ruiz-Garcia, L., Qian, J. P., & Yang, X. T. (2018). Food packaging: A comprehensive review and future trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17, 860–877. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12343>
- Huang, T., Qian, Y., Wei, J., & Zhou, C. (2019). Polymeric Antimicrobial Food Packaging and Its Applications. *Polymers*, 11, 560. <https://doi.org/10.3390/polym11030560>
- Jideani, V. A., & Vogt, K. (2016). Antimicrobial packaging for extending the shelf life of bread – A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56, 1313–1324.
- Jimenez, A., Aneli, J.N., & Kubica, S. (2013). *Chemistry and Physics of Modern Materials: Processing, Production and Applications* (pp. 235 - 251). Apple Academic Press. <https://doi.org/10.1201/b15299>
- Khaneghah, A. M., Hashemi, S. M. B., & Limbo, S. (2018). Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. *Food and Bioproducts Processing*, 111, 1 - 19.
- Kirsh, I. A., Babin, Yu. V., Ananiev, V. V., Tveriynikova, I. S., Romanova, V. A., Bannikova, O. A., & Beznaeva, O. V. (2019). Establishing the Dependence of the Effect of Ultrasound on Pkm Melts and their Functional Technological Characteristics. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy Tekhnologiya Tekstil'noy Promyshlennosti*, 2, 85 - 90.
- Kirsh, I. A., Chalykh, T. I., & Pomogova, D. A. (2016). Modification of polymers and mixtures of incompatible polymers by exposure of their melts to ultrasound. *Journal Characterization and Development of Novel Materials*, 8, 119.
- Lee, K., Watanabe, M., Sugita-Konishi, Y., Hara-Kudo, Y., & Kumagai, S. (2012). Penicillium camemberti and Penicillium roqueforti enhance the growth and survival of Shiga toxin producing Esherihia coli O157 under mild acidic conditions. *Journal of Food Science*, 77, 102 - 107. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02533.x>
- Liu, Y., Liang, X., Wang, S., Qin, W., & Zhang, Q. (2018). Electrospun antimicrobial polylactic acid/tea polyphenol nanofibers for food packaging applications. *Polymers*, 10, 561. <https://doi.org/10.3390/polym10050561>
- Malhotra, B., Keshwani, A., & Kharkwal, H. (2015). Antimicrobial food packaging: Potential and pitfalls. *Frontiers In Microbiology*, 6, 611. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00611>
- Matthews, K. R., Kniel, K. E., & Montville, T. J. (2019). *Food Microbiology: An Introduction* (pp. 55–75). ASM Press.
- Otoni, C. G., Espitia, P. J., Avena-Bustillos, R. J., & McHugh, T. H. (2016). Trends in antimicrobial food packaging systems: Emitting sachets and absorbent pads. *Food Research International*, 83, 60 - 73. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.02.018>
- Pobiega, K., Kraśniewska, K., & Gniewosz, M. (2019). Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 83, 53 - 62.
- Sreekumar, P. A., Elanamugilan, M., Singha, N. K., Al-Harthi, M. A., De, S. K., & Al-Juhani, A. (2014). LDPE filled with LLDPE/Starch masterbatch: Rheology, morphology and thermal analysis. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 39, 8491–8498.
- Zahra, S. A., Butt, Y. N., Nasar, S., Akram, S., Fatima, Q., & Ikram, J. (2016). Food Packaging in Perspective of Microbial Activity: A Review. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 6, 752 - 757. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2016.6.2.752-757>
- Zhong, Y., Godwin, P., Jin, Y., & Xiao, H. (2020). Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, 3, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2019.11.002>

Предраковые интраэпителиальные неоплазии полового члена: современная терминология в соответствии с классификацией ВОЗ опухолей мочевыделительной системы и мужских половых органов 2016 г.

Игорь Анатольевич Ламоткин^{1,2}, Даниил Иванович Корабельников³,
Маргарита Дмитриевна Шибаева², Ламоткин Андрей Игоревич⁴

¹ ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко»

² ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

³ Автономная некоммерческая организация дополнительного профессионального образования «Московский медико-социальный институт имени Ф.П. Гааза»

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет),

Корреспонденция, касающаяся этой статьи, должна быть адресована Ламоткину И.А., адрес: Госпитальная пл., д. 3, город Москва, 105094, Россия, e-mail: ilamotkin@mail.ru

Изучены современные представления о предраковых интраэпителиальных неоплазиях полового члена, изложенных в классификации ВОЗ опухолей мочевыделительной системы и мужских половых органов 2016 года. В 5 главе классификации 2016 г. «Опухоли полового члена» «Tumours of the penis» в разделе «Предраковые повреждения» (Precursor lesions) рассмотрены новые подходы к систематизации предраковых эпителиальных образований полового члена. В этой главе предложены две нозологические единицы: пенильная интраэпителиальная неоплазия (penile intraepithelial neoplasia), ассоциированная с ВПЧ-инфекцией, и дифференцированная пенильная интраэпителиальная неоплазия (differentiated penile intraepithelial neoplasia), не связанная с ВПЧ-инфекцией. В работе на основе личного клинического опыта по ведению пациентов с боуэноидным папулезом, лейкоплакией, лишаем склеротическим полового члена и баланитом псевдоэпителиоматозным кератотическим и слюдяным в ГВКГ им. Н. Н. Бурденко и литературных данных приведено соответствие этих клинических нозологических единиц различным гистопатологическим типам пенильных интраэпителиальных неоплазий. При боуэноидном папулезе выявляется пенильная интраэпителиальная неоплазия, ассоциированная с ВПЧ. Лейкоплакия, лишаи склеротический и баланит псевдоэпителиоматозный кератотический и слюдяной являются клиническими диагнозами, при которых может выявляться дифференцированная пенильная интраэпителиальная неоплазия.

Ключевые слова: боуэноидный папулез, лейкоплакия, лишаи склеротический, баланит псевдоэпителиоматозный кератотический и слюдяной, предраковые интраэпителиальные неоплазии полового члена, классификация ВОЗ опухолей мочевыделительной системы и мужских половых органов 2016 г.

Введение.

Наиболее часто встречаемыми предраковыми интраэпителиальными неоплазиями полового члена являются боуэноидный папулез, склеротический лишаи, лейкоплакия и баланит псевдоэпителиоматозный кератотический и слюдяной. В 2016 г. опубликовано 4-е издание классификации ВОЗ¹ опухолей

мочевыделительной системы и мужских половых органов (H. Moch et al., 2016), в котором утверждены новые подходы к систематизации предраковых интраэпителиальных неоплазий полового члена.

Цель исследования. Сопоставить клинические проявления предраковых заболеваний полового члена с патоморфологическими грациями

¹ WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Edited by H. Moch, P. A. Humphrey, T.M. Ulbright, V.E. Reuter. International Agency for Research on Cancer. Lyon, 4th edition, 2016

интраэпителиальных поражений данного органа, указанных в классификации ВОЗ мочевыделительной системы и мужских половых органов 2016 г.

Материалы и методы

Личный клинический опыт по ведению пациентов с боуэноидным папулезом, склеротическим лишаем, лейкоплакией и баланитом псевдоэпителиоматозным кератотическим и слюдяным. Данные из литературы.

Папулез боуэноидный полового члена

Синоним: бовеноидный папулез. Папулез боуэноидный (papulosis bowenoid) – предраковая болезнь кожи и слизистых оболочек. В 1970 г. К. Lloyd (Lloyd, 1970) описал данное заболевание как одну из форм болезни Боуэна, локализованную на половых органах, и назвал ее «множественная пигментная форма болезни Боуэна на половых органах». Термин «Bowenoid papulosis» предложили в 1977 г. А. Корф и R. Bart в честь дерматолога Джона Темплтона Боуэна (Korff, 1977). Шифр МКБ 10: D07 – новообразования in situ; D07.4 – полового члена; D07.6 – других и неуточненных мужских половых органов. Папулез боуэноидный встречается преимущественно у молодых сексуально активных мужчин в возрасте до 30 лет. Инкубационный период от нескольких месяцев до 1,5 лет (ВПЧ-инфекция может длительно персистировать без клинических проявлений). Болезнь очень заразная, поэтому необходимо отслеживать все половые контакты заболевшего человека. Кроме того, у женщин, контактировавших с больным мужчиной, может развиваться цервикальная интраэпителиальная неоплазия, которая может приводить к раку шейки матки (Shabbir, 2011; Obalek et al., 1986). Папулез боуэноидный в основном ассоциируется с ВПЧ 16 типа, но в развитии этого заболевания могут участвовать ВПЧ 18, 31 и 33 типов. У многих больных одновременно выявляются остроконечные кондиломы, бородавки, простой генитальный герпес. Патологический процесс представлен одиночными или множественными очагами поражения диаметром 2–4 мм, иногда элементы могут образовывать бляшки. Выделяют три клинические формы элементов: 1) эритематозные или пигментированные пятна; 2) лихеноидные или пигментированные папулы; 3) лейкоплакиеподобные очаги поражения. Элементы сыпи располагают-

ся на головке, теле и крайней плоти полового члена. Существование очагов поражения часто вызывает у пациентов зуд и дискомфорт ^{2,3} (von Krogh, 2000). Диагноз устанавливается на основании на клинико-анамнестических данных, результатов ПЦР-диагностики, цитологического и гистологического исследования материала, полученного с пораженного участка кожи. Может применяться проба с уксусной кислотой: после обработки очагов 3–5% уксусной кислотой в течение 5 мин очаги поражения становятся более заметными. ПЦР-исследования материала, взятого из очагов поражения методом соскоба или мазка-отпечатка, направлены на выявление и типирование ВПЧ, иногда на ВПЧ исследуют кровь⁴. При цитологическом исследовании материала из элементов боуэноидного папулеза обнаруживается койлоцитоз. Койлоциты – это клетки плоского эпителия, пораженные ВПЧ. Это достаточно большие клетки с увеличенными темными ядрами с характерной светлой зоной вокруг ядра. Очень часто встречаются двуядерные или многоядерные клетки. Койлоциты появляются только в активную фазу размножения ВПЧ. Если тест на ВПЧ положительный, а цитологически клетки эпителия не изменены – это свидетельствует о том, что ВПЧ находится в латентной фазе. В таком состоянии он способен пребывать достаточно долго и при снижении защитных механизмов снова переходить в фазу активной репликации. Как правило, результатами цитологического исследования материала является обнаружение дисплазии слабой или умеренной степени, значительно реже – тяжелой степени⁵ (von Krogh G, 2000). Дифференцируют папулез боуэноидный с остроконечными кондиломами, сифилитическими папулами, псориазом. Возможны три варианта течения болезни: самостоятельное выздоровление, многолетнее существование высыпаний с образованием новых очагов и перерождение в плоскоклеточный рак (Shabbir, 2011). Папулез боуэноидный протекает более доброкачественно, чем эритроплазия Кейра и болезнь Боуэна. Трансформация в инвазивные формы плоскоклеточного рака полового члена регистрируется при папулезе боуэноидным менее чем в 1% случаев и прежде всего у иммунокомпрометированных пациентов (Korff, 1977; von Krogh, 2000).

Лейкоплакия полового члена

Лейкоплакия полового члена – предраковое поражение. Провоцирующие факторы: воздействие

² Ламоткин И. А., (2011). *Клиническая дерматоонкология: атлас*. БИНОМ. Лаборатория знаний.

³ Ламоткин И. А. (2017). *Онкодерматология. Атлас*. Лаборатория знаний.

⁴ https://en.wikipedia.org/wiki/Bowenoid_papulosis, редактирование страницы 21.02.2019

⁵ <https://en.wikipedia.org/wiki/Koilocyte>, редакция страницы 20 августа 2019.

химических веществ на головку члена; механическое повреждение; длительно существующий фимоз; гормональные нарушения, сахарный диабет; гиповитаминоз А; хронические воспалительные процессы мочеполовой системы. Лейкоплакия в основном регистрируется у мужчин после 50 лет⁶ (Shabbir, 2011). На крайней плоти и/или на головке полового члена вначале появляется избыточное ороговение. Обычно очаг появляется в том месте, где имело место длительное механическое раздражение (например, тесным бельем) или воспаление. Затем очаг затвердевает, и на его поверхности образуются мутные пленки. Типичная белая бляшка формируется в течение нескольких месяцев. Сформировавшаяся бляшка имеет бугристую поверхность. При дальнейшем развитии в области бляшки могут появиться эрозии или трещины, сопровождающиеся болевым синдромом. При расположении очага лейкоплакии в зоне ладьевидной ямки и мочеиспускательного канала появляются проблемы с мочеиспусканием. Могут быть множественные очаги поражения (Dauendorffer et al., 2018). В 10-20% случаев выявляется дисплазия высокой степени, которая может приводить к трансформации в плоскоклеточный рак (Dauendorffer et al., 2018; Mikhall, 1980).

Лишай склеротический полового члена

Синонимы: баланит ксеротический облитерирующий, склероатрофический лишай, крауроз полового члена. Лишай склеротический – распространенное предраковое поражение полового члена, не связанное с ВПЧ. Чаще встречается у пациентов в 30-40 лет. Обычно поражение проявляется в виде белых атрофических бляшек. Однако могут быть разные клинические формы ЛС: папулезная, эритематозно-отечная, витилигинозная, буллезная, атрофическая, эрозивно-язвенная, телеангиэктатическая. Поражаются головка и крайняя плоть полового члена. Вначале, как правило, первые очаги появляются в области крайней плоти в виде белесоватого склеротического кольца. Затем в патологический процесс вовлекается головка полового члена. В дальнейшем ткань крайней плоти уплотняется, что приводит к затруднению полноценного раскрытия головки полового члена. Также в патологический процесс могут вовлекаться губки уретры и передняя часть уретры (Shabbir, 2011). Могут выявляться признаки дисплазии различной степени (дифференцированная интраэпителиальная неоплазия полового члена (dPeIN). Может привести к развитию фимоза и парафимоза, уретрального стеноза, рубцов на поверхности и поте-

ре чувствительности нервных окончаний. Также наличие лишая склеротического может привести к развитию плоскоклеточного рака полового члена (по данным разных авторов в 2,3-8,4% случаев (Barbagli, 2006; Depasquale, 2000).

Баланит псевдоэпителиоматозный кератотический и слюдяной

Баланит псевдоэпителиоматозный кератотический и слюдяной (pseudoepitheliomatous keratotic and micaceous balanitis) – поражение кожи, характеризующееся наличием на головке полового члена слоистых и гиперкератотических бляшек, напоминающих минерал-слюда. Впервые данное заболевание описали в 1961 г. E. Lortat-Jacob и J. Civatte (Lortat-Jacob & Civatte, 1961). Шифр по МКБ-10: N48.8. В настоящее время данное заболевание относят к предраковым поражениям: дифференцированная интраэпителиальная неоплазия полового члена (differentiated penile intraepithelial neoplasia - dPeIN). Это ВПЧ-негативная плоскоклеточная интраэпителиальная пролиферация может ассоциироваться с лишаем склеротическим и характеризуется отсутствием при иммуногистохимическом исследовании экспрессии p16. (Moch et al., 2016; Shabbir, 2011; Chaux et al., 2011). Этиология и патогенез точно неясны. Предполагается, что это поражение является псевдоэпителиоматозным ответом на хроническую инфекцию в области головки полового члена (Murthy, 2010). Также существуют мнения, что данный баланит является начальной стадией веррукозной карциномы или инвазивного плоскоклеточного рака или клиническим вариантом лишая склеротического (Adya, 2013; Jenkins, 1998). Это редкое поражение головки полового члена, которое регистрируется обычно у необрезанных мужчин в возрасте 50-70 лет (Adya, 2013). Характеризуется появлением безболезненных гиперкератотических бляшек в области головки полового члена, покрытых массивными толстыми слоистыми корками белого, желтого или светло-коричневого цветов, напоминающих слюду – горный минерал. Одновременно могут наблюдаться мелкие веррукозные элементы. Головка полового члена обычно сухая и неэластичная, могут наблюдаться мацерация, трещины и язвы. При локализации бляшек в области отверстия уретры наблюдается «симптом лейки» – разбрызгивание мочи при мочеиспускании. Заболевание протекает обычно без субъективных ощущений, иногда больные жалуются на чувство жжения. Толщина бляшки иногда может быть значительна, что напоминает кожный пор (Moch et al., 2016; Adya, 2013;

⁶ <http://www.venerologia.ru/lejkoplakiya-chlena>

Pai, 2010). При гистологическом исследовании обнаруживают гиперкератоз, паракератоз, акантоз, удлиненные ретикулярные гребни и умеренную дисплазию нижнего отдела эпидермиса с неспецифическим воспалительным инфильтратом кожи, состоящим из эозинофилов и лимфоцитов (Pai, 2010). Дифференцируют с эритроплазией Кейра, инвазивным плоскоклеточным раком и веррукозным раком (Adya, 2013). Характерны медленный рост опухоли и отсутствие метастазов. Регионарные лимфатические узлы не увеличиваются. Отмечается хроническое течение заболевания с частыми рецидивами после лечения (Moch et al., 2016; Adya, 2013).

Современная терминология предраковых интраэпителиальных неоплазий полового члена в соответствии с классификацией ВОЗ опухолей мочевыделительной системы и мужских половых органов 2016 г.

В 2016 г. опубликовано 4-е издание классификации ВОЗ опухолей мочевыделительной системы и мужских половых органов (Moch et al., 2016). В главе 5 этой классификации «Опухоли полового члена» «*Tumours of the penis*» в разделе «Предраковые повреждения» (Precursor lesions) рассмотрены интраэпителиальные неоплазии (Penile intraepithelial neoplasia), которые подразделены на две основных типа: ВПЧ-позитивный и ВПЧ-негативный PeIN (Moch et al., 2016; Velazquez, 2012; Krstrup, 2009).

ВПЧ-позитивные интраэпителиальные неоплазии полового члена. Данная PeIN имеет морфологический код Международной классификации онкологических болезней (МКБ-О) (International Classification of Diseases for Oncology – ICD-O)

8077/2, где поведение опухоли кодируется как 2 – карциномы in situ. Она возникает в результате местной инфекции ВПЧ, чаще регистрируется тип 16, но могут быть и другие серотипы (18, 31, 33 и 35). Инфицирование такими серотипами может приводить как к низкой, так и к высокой степени дисплазии. Также способствует возникновению PeIN большое количество сексуальных партнеров, курение, наличие трещин и других ран в области полового члена. Могут ассоциироваться с другими заболеваниями нижних отделов аногенитального тракта, вызванные ВПЧ (Moch et al., 2016; Chaux, 2010). В зависимости от патоморфологических характеристик выделяют три подтипа PeIN, ассоциированных с ВПЧ: бородавчатый (боуэноидный) (warty PeIN), базалоидный (недифференцированный) (basaloid PeIN) и бородавчато-базалоидный (warty-basaloid PeIN) (Moch et al., 2016; Chaux, 2012). Для бородавчатого и базалоидного подтипов PeIN характерно наличие плоских или слегка приподнятых эритематозных, темно-коричневых или черных пятен, папул или бляшек. Поражения могут быть гладкими или бородавчатыми. Границы очагов четкие или неровные. Очаги поражения, как правило, множественные, но могут быть и единичные элементы. Элементы обычно локализуются на головке полового члена (Moch et al., 2016). Клиническими диагнозами могут быть папулез боуэноидный, болезнь Боуэна, эритроплазия Кейра. Базалоидный подтип обычно вызывается ВПЧ 16 типа, а бородавчатый – гетерогенными типами ВПЧ (Moch et al., 2016).

ВПЧ-негативные интраэпителиальные неоплазии полового члена. Выделяют тип, который называется «дифференцированная пенильная интраэпителиальная неоплазия» «differentiated penile

Таблица 1

Современная терминология предраковых интраэпителиальных неоплазий полового члена и ее соответствие клиническим формам

Терминология ВОЗ классификации 2016 г.	Синонимы	Коды ICD-O	Соответствие клиническим нозологическим формам
Пенильная интраэпителиальная неоплазия (penile intraepithelial neoplasia) (PeIN)	Плоскоклеточное интраэпителиальное поражение; плоскоклеточный рак in situ.; дисплазия низкой и высокой степени; эритроплазия Кейра; болезнь Боуэна	8077/2	1). Лейкоплакия неомогенная: чередование белых и красных участков, которые могут быть плоскими, узловыми или изъязвленными; 2). Папулез боуэноидный
Дифференцированная пенильная интраэпителиальная неоплазия (differentiated penile intraepithelial neoplasia) (dPeIN)	Карцинома in situ простого типа	807½	1). Лейкоплакия. 2). Лишай склеротический 3). Баланит псевдоэпителиоматозный кератотический и слюдяной

Примечание. ICD-O (International Classification of Diseases for Oncology) – коды Международной классификации онкологических болезней (МКБ-О). Поведение опухоли кодируется: 0 – доброкачественные опухоли; 1 – пограничные или неопределенного поведения опухоли; 2 – карциномы in situ; 3 – злокачественные опухоли.

intraepithelial neoplasia» (dPeIN) Это dPeIN характеризуется пролиферацией аномальных дифференцированных кератиноцитов и атипией базальных клеток. Возникновение dPeIN не связано с ВПЧ. Она имеет код ICD-O 807½, где поведение опухоли также кодируется как 2 – карциномы in situ (Moch et al., 2016; Velazquez, 2012; Krustup, 2009). Возникновение dPeIN обусловлено существованием хронических воспалительных заболеваний полового члена: лишай склеротический, лейкоплакия, баланит псевдоэпителиоматозный кератотический и слюдяной (Shabbir, 2011). Проявляется dPeIN обычно единичным очагом поражения в виде пятна или бляшки белого или розового цвета с четкими или неровными границами. Поражает dPeIN чаще всего крайнюю плоть и реже головку или венечную борозду. При ИГХ выявляется экспрессия p53 (Moch et al., 2016; Oertell, 2011).

Другие типы PeIN. Эти патоморфологические типы встречаются значительно реже, чем первые два. Кроме того, они менее изучены. К ним относятся следующие подтипы: веретенообразный, плеоморфный, светлоклеточный и педжетоидный. Крайне редко встречается dPeIN и бородавчатобазалоидная PeIN у одного и того же пациента Н. (Moch et al., 2016).

Выводы

Таким образом, боуэноидный папулез, лейкоплакия, лишай склеротический и баланит псевдоэпителиоматозный кератотический и слюдяной – это четыре нозологические единицы, диагнозы которых устанавливаются в основном по клиническим признакам. В соответствии с классификацией ВОЗ опухолей мочевыделительной системы и мужских половых органов 2016 г. клинические проявления боуэноидного папулеза относятся к ВПЧ-ассоциированным предраковым заболеваниям полового члена, а после получения результатов патоморфологического исследования они являются интраэпителиальными неоплазиями. Однако клинические проявления лейкоплакии, лишая склеротического и баланита псевдоэпителиоматозного кератотического и слюдяного относятся к предраковым заболеваниям полового члена, не связанными с ВПЧ, и после получения результатов патоморфологического исследования являются дифференцированной пенильной интраэпителиальной неоплазией. Сопоставление клинических проявлений боуэноидного папулеза, лейкоплакии, лишая склеротического и баланита псевдоэпителиоматозного кератотического и слюдяного

с гистопатологическими признаками интраэпителиальных неоплазий улучшает диагностику и прогноз предраковых заболеваний полового члена.

Литература

- Adya, K. A., Palit, A., & Inamadar, A. C. (2013). Pseudoepitheliomatous keratotic and micaceous balanitis. *Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS*, 34(2), 123-5. <https://doi.org/10.4103/0253-7184.120551>
- Barbagli, G., Palminteri, E., Mirri, F., Guazzoni, G., Turini, D., & Lazzeri, M. (2006). Penile carcinoma in patients with genital lichen sclerosis: a multicenter survey. *The Journal of Urology*, 175(4), 1359-1363. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(05\)00735-4](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)00735-4)
- Chaux, A., Pfannl, R., Rodríguez, I. M., Barreto, J. E., Velazquez, E. F., Lezcano, C., Piris, A., Netto, G. J., & Cubilla, A. L. (2011). Distinctive immunohistochemical profile of penile intraepithelial lesions: a study of 74 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*, 35(4), 553-562. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3182113402>
- Chaux, A., Pfannl, R., Lloveras, B., Alejo, M., Clavero, O., Lezcano, C., Muñoz, N., de Sanjosé, S., Bosch, X., Hernández-Pérez, M., Velazquez, E. F., & Cubilla, A. L. (2010). Distinctive association of p16INK4^a overexpression with penile intraepithelial neoplasia depicting warty and/or basaloid features: a study of 141 cases evaluating a new nomenclature. *The American journal of surgical pathology*, 34(3), 385-392. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181cdad23>
- Chaux, A., Velazquez, E. F., Amin, A., Soskin, A., Pfannl, R., Rodríguez, I. M., Barreto, J. E., Lezcano, C., Ayala, G., Netto, G. J., & Cubilla, A. L. (2012). Distribution and characterization of subtypes of penile intraepithelial neoplasia and their association with invasive carcinomas: a pathological study of 139 lesions in 121 patients. *Human pathology*, 43(7), 1020-1027. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.07.025>
- Dauendorffer, J.N., Cavelier Balloy, B., Bagot, M., & Renaud-Vilmer, C. (20118). Penile squamous hyperplasia. *Annales de dermatologie et de vénéréologie*, 145(1), 72-5.
- Depasquale, I., Park, A. J., & Bracka, A. (2000). The treatment of balanitis xerotica obliterans. *BJU International*, 86, 459-465.
- Jenkins, D. Jr., & Jakubovic, H. R. (1998). Pseudoepitheliomatous, keratotic and micaceous balanitis. A clinical lesion with two histologic subsets: Hyperplastic dystrophy and verrucous carcinoma. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 18, 419-22.

- Kopf, A. W., & Bart, R. S. (1977). Tumor conference No. 11: multiple bowenoid papules of the penis: a new entity? *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, 3(3), 265-9. doi: 10.1111/j.1524-4725.1977.tb00289.x
- Krustrup, D., Jensen, H. L., van den Brule, A. J., & Frisch, M. (2009). Histological characteristics of human papilloma-virus-positive and -negative invasive and in situ squamous cell tumours of the penis. *International Journal of Experimental Pathology*, 90(2), 182-9.
- Lloyd, K. M. (1977). Multicentric pigmented Bowen's disease of the groin. *Archives of Dermatology*, 101, 48-51.
- Lortat-Jacob, E., & Civatte, J. (1961). Micaceous and keratotic pseudo-epitheliomatous balanitis. *Bulletin de la Société Française de Dermatologie et de Syphiligraphie*, 68, 164-7.
- Mikhail, G.R. (1980). Cancers, precancers, and pseudocancers on the male genitalia: A review of clinical appearances, histopathology, and management. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, 6, 1027-35.
- Murthy, P. S., Kanak, K., Raveendra, L., & Reddy, P. (2010). Pseudoepitheliomatous, keratotic and micaceous balanitis. *Indian Journal of Dermatology*, 55, 190-1.
- Obalek, S., Jablonska, S., Beaudenon, S., Walczak, L., & Orth, G. (1986). Bowenoid papulosis of the male and female genitalia: Risk of cervical neoplasia. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 14, 433-444.
- Oertell, J., Caballero, C., Iglesias, M., Chaux, A., Amat, L., Ayala, E., Rodríguez, I., Velázquez, E. F., Barreto, J. E., Ayala, G., & Cubilla, A. L. (2011). Differentiated precursor lesions and low-grade variants of squamous cell carcinomas are frequent findings in foreskins of patients from a region of high penile cancer incidence. *Histopathology*, 58(6), 925-933. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2011.03816.x>
- Pai, V. V., Hanumanthayya, K., Naveen, K. N., Rao, R., & Dinesh, U. (2010). Pseudoepitheliomatous, keratotic and micaceous balanitis presenting as cutaneous horn in an adult male. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 76, 547-9.
- Velazquez, E. F., Chaux, A., & Cubilla, A. L. (2012). Histologic classification of penile intraepithelial neoplasia. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 29, 96-102.
- Shabbir, M., Minhas, S., & Muneer, A. (2011). Diagnosis and management of premalignant penile lesions. *Therapeutic Advances in Urology*, 3(3), 151-8.
- von Krogh, G., & Horenblas, S.N. (2000). Diagnosis and clinical presentation of premalignant lesions of the penis. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 34, 201-221.

Pre-Cancious Penile Intraepithelial Neoplasia. Modern Terminology According to the 2016 WHO Classification of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs

Igor A. Lamotkin^{1,2}, Daniil I. Korabelnikov³,
Margarita D. Shibaeva², Andrei I. Lamotkin⁴

¹ Burdenko Main Military Clinical Hospital

² Medical Institute of Continuing Education, Moscow State University of Food Production

³ Moscow Haass Medical and Social Institute

⁴ First Moscow State Medical University (Sechenov University)

Correspondence concerning this article should be addressed to Igor A. Lamotkin, Burdenko Main Military Clinical Hospital; 3, Gospitalnaya square, Moscow, 105229, Russian Federation, e-mail: ilamotkin@mail.ru

Modern vision of pre-cancious penile intraepithelial neoplasia contained in the 2016 WHO Classification of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs was studied. New approaches to systematization of pre-cancious epithelial tumors of penis were reviewed in the fifth chapter of the 2016 WHO Classification called «Tumours of the penis» in section Precursor lesions. In this chapter two nosological units such as penile intraepithelial neoplasia associated with HPV infection and differentiated penile intraepithelial neoplasia not associated with NPV were proposed. We analysed patients with papulosis bowenoid, leukoplakia, penile lichen sclerosus, pseudoepitheliomatous keratotic and micaceous balanitis in Main Military Clinical Hospital named after N.N. Burdenko in accordance with different histopathological types of penile intraepithelial neoplasia. Penile intraepithelial neoplasia associated with HPV is identified in cases of papulosis bowenoid. Differential penile intraepithelial neoplasia can be found in clinical diagnosis of leukoplakia, penile lichen sclerosus, pseudoepitheliomatous keratotic and micaceous balanitis.

Key words: papulosis bowenoid, leukoplakia, penile lichen sclerosus, pseudoepitheliomatous keratotic and micaceous balanitis, pre-cancious penile intraepithelial neoplasia, 016 WHO Classification of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs

References

- Adya, K. A., Palit, A., & Inamadar, A. C. (2013). Pseudoepitheliomatous keratotic and micaceous balanitis. *Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS*, 34(2), 123-5. <https://doi.org/10.4103/0253-7184.120551>
- Barbagli, G., Palminteri, E., Mirri, F., Guazzoni, G., Turini, D., & Lazzeri, M. (2006). Penile carcinoma in patients with genital lichen sclerosus: a multicenter survey. *The Journal of Urology*, 175(4), 1359-1363. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(05\)00735-4](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)00735-4)
- Chaux, A., Pfannl, R., Rodríguez, I. M., Barreto, J. E., Velazquez, E. F., Lezcano, C., Piris, A., Netto, G. J., & Cubilla, A. L. (2011). Distinctive immunohistochemical profile of penile intraepithelial lesions: a study of 74 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*, 35(4), 553-562. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3182113402>
- Chaux, A., Pfannl, R., Lloveras, B., Alejo, M., Clavero, O., Lezcano, C., Muñoz, N., de Sanjosé, S., Bosch, X., Hernández-Pérez, M., Velazquez, E. F., & Cubilla, A. L. (2010). Distinctive association of p16INK4^a overexpression with penile intraepithelial neoplasia depicting warty and/or basaloid features: a study of 141 cases evaluating a new nomenclature. *The American journal of surgical pathology*, 34(3), 385-392. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181cdad23>
- Chaux, A., Velazquez, E. F., Amin, A., Soskin, A., Pfannl, R., Rodríguez, I. M., Barreto, J. E., Lezcano, C., Ayala, G., Netto, G. J., & Cubilla, A. L. (2012). Distribution and characterization of subtypes of penile intraepithelial neoplasia and their association with invasive carcinomas: a pathological study of 139 lesions in 121 patients.

How to Cite

Lamotkin, I. A., Korabelnikov, D. I., Shibaeva, M. D., & Lamotkin, A. I. (2020). Pre-cancious penile intraepithelial neoplasia. Modern terminology according to the 2016 WHO Classification of tumors of the urinary system and male genital organs. *Health, Food & Biotechnology*, 2(4). <https://doi.org/10.36107/hfb.2020.i4.s89>

- Human pathology*, 43(7), 1020–1027. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.07.025>
- Dauendorffer, J.N., Cavelier Balloy, B., Bagot, M., & Renaud-Vilmer, C. (20118). Penile squamous hyperplasia. *Annales de dermatologie et de vénéréologie*, 145(1), 72-5.
- Depasquale, I., Park, A. J., & Bracka, A. (2000). The treatment of balanitis xerotica obliterans. *BJU International*, 86, 459-465.
- Jenkins, D. Jr., & Jakubovic, H. R. (1998). Pseudoepitheliomatous, keratotic and micaceous balanitis. A clinical lesion with two histologic subsets: Hyperplastic dystrophy and verrucous carcinoma. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 18, 419-22.
- Kopf, A. W., & Bart, R. S. (1977). Tumor conference No. 11: multiple bowenoid papules of the penis: a new entity? *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, 3(3), 265-9. doi: 10.1111/j.1524-4725.1977.tb00289.x
- Krustrup, D., Jensen, H. L., van den Brule, A. J., & Frisch, M. (2009). Histological characteristics of human papilloma-virus-positive and -negative invasive and in situ squamous cell tumours of the penis. *International Journal of Experimental Pathology*, 90(2):182-9.
- Lloyd, K. M. (1977). Multicentric pigmented Bowen's disease of the groin. *Archives of Dermatology*, 101, 48-51.
- Lortat-Jacob, E., & Civatte, J. (1961). Micaceous and keratotic pseudo-epitheliomatous balanitis. *Bulletin de la Société Française de Dermatologie et de Syphiligraphie*, 68, 164-7.
- Mikhail, G.R. (1980). Cancers, precancers, and pseudocancers on the male genitalia: A review of clinical appearances, histopathology, and management. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, 6, 1027-35.
- Murthy, P. S., Kanak, K., Raveendra, L., & Reddy, P. (2010). Pseudoepitheliomatous, keratotic and micaceous balanitis. *Indian Journal of Dermatology*, 55, 190-1.
- Obalek, S., Jablonska, S., Beaudenon, S., Walczak, L., & Orth, G. (1986). Bowenoid papulosis of the male and female genitalia: Risk of cervical neoplasia. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 14, 433-444.
- Oertell, J., Caballero, C., Iglesias, M., Chaux, A., Amat, L., Ayala, E., Rodríguez, I., Velázquez, E. F., Barreto, J. E., Ayala, G., & Cubilla, A. L. (2011). Differentiated precursor lesions and low-grade variants of squamous cell carcinomas are frequent findings in foreskins of patients from a region of high penile cancer incidence. *Histopathology*, 58(6), 925–933. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2011.03816.x>
- Pai, V. V., Hanumanthayya, K., Naveen, K. N., Rao, R., & Dinesh, U. (2010). Pseudoepitheliomatous, keratotic and micaceous balanitis presenting as cutaneous horn in an adult male. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 76, 547-9.
- Velazquez, E. F., Chaux, A., & Cubilla, A. L. (2012). Histologic classification of penile intraepithelial neoplasia. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 29, 96-102.
- Shabbir, M., Minhas, S., & Muneer, A. (2011). Diagnosis and management of premalignant penile lesions. *Therapeutic Advances in Urology*, 3(3), 151-8.
- von Krogh, G., & Horenblas, S.N. (2000). Diagnosis and clinical presentation of premalignant lesions of the penis. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 34, 201-221.

Thermal Effect of Carbohydrate Dissolution in Aqueous-Organic Media

Yulia V. Danilchuk¹

¹ *Moscow State University of Food Production*

Correspondence concerning this article should be addressed to Yulia V. Danilchuk, Moscow State University of Food Production, 11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation, e-mail: dan_uv@mail.ru

This work is devoted to the theoretical substantiation of connection of temperature dependence of the solubility of carbohydrates with thermal effect of their dissolution in the water-containing organic solvents that is of great importance for optimization of the technology of their extraction from plant raw materials and further purification and separation by recrystallization. The dependence of the solubility of fructose, glucose, sucrose, and maltose in aqueous isopropanol and acetone at temperatures of 298 K (25°C) and 275 K (2°C) from water content in a solvent was studied. The constancy of the mechanism of solubility of carbohydrates in these environments in the given temperature interval is experimentally proved. For the first time based on the equation of Vant-Goff the logical connection of temperature dependence of solubility and thermal effect of solubility of carbohydrates is strictly grounded. The values of the thermal effect that are determined by the experimental data allow calculating the solubility of the studied carbohydrates in the aqueous-organic solvent of different concentration in the temperature range from 2°C to 25°C. It has been established that the main contribution to the thermal effect of dissolving carbohydrates is the hydration process. Solvation by molecules of organic solvent practically does not change the value of the specified thermal effect. The significance of determined temperature dependences of the solubility of fructose, glucose and maltose is shown to optimize the technological conditions for the separation of glucose-fructose and glucose-maltose syrups by selective crystallization.

Keywords: solubility, temperature dependence, thermal effect, fructose, glucose, saccharose, maltose, isopropanol, acetone.

Introduction

Experimental data of dependence of the solubility of substances from temperature is accepted to represent either in the form of tables and graphs or through empirically chosen equations by authors of the researches. For example, this kind of dependence for the sucrose system - water in the interval from -12°C to + 81°C with a step of one degree is given in the work (Sapronov, 1998). In the same source, it is noted that in the interval from 0 to 90°C the content of sucrose in saturated aqueous solution S (mas.%) With sufficient accuracy is described by the equation in the form of polyoma

$$S = 64,397 + 7,251 \cdot 10^{-2}t + 20,569 \cdot 10^{-4}t^2 - 9,035 \cdot 10^{-6}t^3,$$

where t is the solution temperature in degrees Celsius.

It is essential to know the dependence of sucrose solubility in the water on the content of various inorganic salts such as KCl, NaCl, MgCl, and CaCl for sugar production. These salts can both increase and reduce the sucrose solubility (Wang, 1993).

Dependence from temperature and appropriate theoretical interpretation of the results of sucrose solubility and other carbohydrates in water solutions and the applicability of the UNIFAC model for this purpose are provided in the works (Zhang, 2010; Baghbanbashi, 2014; Peres, 1997). This dependence is usually well described by the Vant Goff equation.

Data on the dependence of sucrose solubility in water-ethanol from alcohol content in the full range of concentrations at temperatures of 0°C, 14°C, and 40°C is presented in tabular form in the handbook (Simanova, 2004) are described in detail in a wide range of temperatures in other sources (Peres, 1997; Peres, 1997; Spiliotis, 2000). Such information allows calculating multi-component crystallization and rectification with high accuracy, to design new processes and types of apparatuses in sugar, alcohol and liquor-vodka industry on this basis. Similar data for other three-component carbohydrate systems - water - organic solvent are obtained and described by the authors in the works (Peres, 1997; Peres, 1997; Spiliotis, 2000). In addition to sucrose, the solubility of glucose, maltoses, fructose,

xylose, mannose, lactulose, lactose, tagatose, galactose, etc. in solvents such as ethanol, methanol, propanol-1, butanol, pentanol, propylene glycol, glycerin were studied (Tinjacá, 2019; Ye, 2017; Gabas, 1988). The solvents were used both in their purest form and in various water relations (Ye, 2017; Gabas, 1988).

More complex multi-component systems for studying the solubility of carbohydrates in order to extract and separate them from natural and synthetic raw materials are of interest. For instance, the study (Montanes, 2009) explores the possibility of using complex supercritical carbon dioxide with ethanol:water (95:5, vol./vol.) used as a co-solvent at $T = (60 \text{ and } 100)^\circ\text{C}$, $P = (10\text{-}30) \text{ MPa}$ and co-solvents content from 6 to 21% (weight/weight) for the selective extraction of components from lactulose/lactose and tagatose/galactose binary mixtures.

The study of carbohydrate extraction processes of different chemical nature from lignocellulose biomass by extraction by waterless complex organic salts - ion liquids (ILs) (Teles, 2016; Mohan, 2016) has an essential practical meaning for the production of green fuel and other useful substances. In the same works, the mechanism of dissolving carbohydrates in ILs with the formation of solvate complexes of monosaccharides with ion pairs of complex salts is discussed.

Despite the abundance of work devoted to the study of the carbohydrates dissolution mechanism in complex multi-component systems, the researchers did not conduct a systematic study of the role of water, and the process of dissolution in terms of the fundamental laws of physical chemistry.

The author of this work has developed and implemented a new method of separating carbohydrates from two-component mixtures by selective crystallization of one of them when adding an organic solvent to the water solution of the mixture (Danilchuk, 2012). This method is applicable for the separation of glucose-fructose and glucose-maltose syrups (RU Patent No. 2347818, 2009⁷; Danilchuk, 2016). Widely used solvents - isopropanol, acetone, acetonitrile - can be used to implement the method. The author proposed a physical and chemical model of the process of dissolving carbohydrates in mixed water-organic solvents, showing the decisive role of hydration in the process of carbohydrates dissolving.

Previously for the first time (Danilchuk, 2013) we have demonstrated that the process of dissolving carbohydrates in water-organic environments (water-

containing isopropanol, acetone, acetonitrile) from the law of acting masses can be considered as a quasi-chemical reaction of equilibrium between carbohydrate in solid (Carbohydrate) solid and dissolved states [(Carbohydrate) $b\text{H}_2\text{O}$] solution.

(Carbohydrate)solid + $b\text{H}_2\text{O} = [(\text{Carbohydrate}) b\text{H}_2\text{O}]$ solution.

The right side of this equilibrium equation the formation of a hydrated carbohydrate complex that directly passes into the solution is depicted symbolically. In this case, the constant of physicochemical equilibrium K , replacing the volumetric concentrations on the mass fraction, can be recorded as

$$K = P/Cb, \quad (1)$$

where C is the mass fraction of water in the binary solvent; P – solubility expressed in g of carbohydrate dissolved in 1 g of a binary solvent; the indicator b is equal to the stoichiometric coefficient in the chemical equation. In the mathematical expression of the equilibrium constant (1) the concentration of solids (Carbohydrate)solid as usual, do not include.

This description of the solubility process is the physicochemical substantiation of the established experimental equation of solubility of carbohydrates in water-organic media:

$$P = aCb \quad (2)$$

or in logarithmic form

$$\lg P = b \lg C + \lg a,$$

a , b – coefficients derived from experimental linear graphs in logarithmic coordinates $x = \lg C$ and $y = \lg P$ by least squares method for each of the carbohydrates in this binary solvent since the linear dependence is performed in these coordinates

$$y = bx + \lg a.$$

The coefficient a , as seen in the comparison of equations (1) and (2), is a non-dimensional constant of equilibrium.

It is known that the amount of carbohydrates solubility and the change of this magnitude from the temperature is determined by the chemical nature of the carbohydrate and the solvent composition. Changing these parameters can affect the solubility of different carbohydrates in different ways and, in particular to achieve selective crystallization of one of the components, which allows us to separate and purify the components of the mixture.

⁷ Danilchuk, V. D. (2009). RU Patent No. 2347818.

One of the objectives of this study was to confirm the persistence of the physicochemical mechanism of the dissolution process of fructose, glucose, sucrose, and maltose in aqueous isopropanol and acetone, with a decrease in temperature from $T_1 = 298 \text{ K}$ (25°C) to $T_2 = 275 \text{ K}$ (2°C). For this purpose coefficients of solubility equation a and b at the temperature of 25°C , which are received in work (Danilchuk, 2013), were refined, and the similar coefficients at temperature of 2°C have been clarified.

The solution of the identified problem will theoretically justify the connection of the temperature dependence of the solubility of the specified carbohydrates with the thermal effect of their dissolution in the water-containing organic solvents of different composition. Establishment of such connection is the primary purpose of the research and is of great practical importance for optimization of technological processes of heat and mass exchange of extraction of carbohydrates from vegetative raw materials and their further purification and separation of the method of selective crystallization (Danilchuk, 2012; RU Patent No. 2347818, 2009; Danilchuk, 2016; RU Patent No. 2604288, 2016⁸) proposed by us. The theoretical value of the sought connection is that this relationship will allow to accurately calculate the solubility of carbohydrates at any temperature for any composition of the water-organic solvent within limits required for carrying out technological processes.

Materials and methods

For the study were used: distilled water, carbohydrates - glucose, fructose, maltose and saccharose chemical purity 99.9 mas. %, organic solvents – chemically pure and non-aqueous isopropanol and acetone.

The solubility of carbohydrates was determined by titration of binary mixtures (aqueous solutions of carbohydrates) of different composition by the third component (organic solvent) to the turbidity of the solution⁹. This method is usually used to build phase diagrams of three-component systems when all three components are liquids. The essence of the titration process is to add the third component to the homogeneous two-component solution to the point of turbidity associated with the formation of the second liquid phase. Thus, the composition of the saturated solution is calculated and one point is obtained on the solubility curve of the phase diagram separating the

single-phase area from the two-phase. The method of titration shown was firstly applied and modified to determine the solubility of solids – carbohydrates in two-component solvents. The modification allows in the process of repeated titration using two measuring burettes and during one procedure to obtain a large number of points on the curve of the solubility of carbohydrates in the organic solvent from the content of water in a wide range from 10 to 70 mas. % ($C = 0.1-0.7$). Processing of the received data of titration by the method of the least squares in logarithmic coordinates $x = \lg C$ and $y = \lg P$ allows defining parameters a and b in equation (2).

As an example, we will describe the procedure of getting a dependence of sucrose solubility in water-based acetone with the help of the method of repeated titration at the temperature of 25°C . For the experience it is necessary to have: distilled water, sucrose with the content of the principal substance 99.9 mas. %, exceptionally pure waterfree acetone, scales with the accuracy of weighing 0.01 g, conical flask on 250 cm^3 , two measuring burettes: for water - on 25 cm^3 , for acetone - on 50 cm^3 .

In the conical flask the weighed portion of sucrose with a mass of 6.00 g dissolved in 4.00 cm^3 (4.00 g) of water at a given ambient temperature (25°C) to the formation of a transparent solution. We have installed two measuring burettes, filled with water (25 cm^3) and acetone (50 cm^3) on a tripod. After exhausting the first 50 cm^3 of acetone in the process of titration added a second portion of acetone in the same volume. Equipment and reagents must take the ambient temperature of 25°C before titration. The results of multiple titration were made in the first two columns of table 1, where the first column shows the total water volume VW added to the system, taking into account the 4 cm^3 initially inside the flask before titration, and the second column shows the total volume of acetone VA , which went on titration till the moment of clouding at this step.

The process of multiple titration was performed as follows. In the flask to the original solution 6.00 g sucrose ($MS = 6.00 \text{ g}$) in 4.00 g of water ($VW = 4.0 \text{ cm}^3$), acetone was gradually poured from the burette at stirring to the point of turbidity, which came after the addition of $VA = 5,9 \text{ cm}^3$ (see Table 1). Then from another burette in the received mix was poured 0.5 cm^3 of water ($VW = 4.5 \text{ cm}^3$) at hashing. The general mixture became transparent, i.e., homogeneous. The process of titration by acetone to turbidity was

⁸ Danilchuk, J. (2016). RU Patent No. 2604288.

⁹ Konyukhov, V. Yu., & Popov, K.I. . (2002). *Physicochemical foundations of food industry*. Publishing complex of the Moscow State University of Food Production.

repeated. In the second stage of titration 1.6 cm³ of acetone was spent, i.e., from the moment of the beginning of titration, the total spent VA = 5.9 cm³ of acetone that corresponds to a position of a meniscus in the burette and was entered in the second line of the second column of Table 1. The procedure was repeated many times and finished when the total mixture contained 6.00 grams of sucrose, 24.5 cm³ (24.50 g) of water and 99.4 cm³ (78.63 g) acetone.

characterizing points of titration in corresponding masses MW and MA. For this purpose the volumetric density of water and acetone, equal respectively 1.000 and 0.791 g/cm³ were used. Water content *C* and solubility of sucrose *P* counted on formulas

$$C = MW/(MW + MA),$$

$$P = MS/(MW + MA).$$

To fill Table 1 and further processing of results it was necessary to transfer volumes of water and acetone

In the last two columns Table 1 show the modules of decimal logarithms of parameters *C* and *B*, necessary

Table 1
Solubility of sucrose in water acetone at 25 °C

VW, cm ³	VA, cm ³	MA, g	MW + MA, g	C	P	-lg C	-lg P
4,0	4,3	3,40	7,40	0,5405	0,8108	0,267	0,091
4,5	5,9	4,67	9,17	0,4907	0,6543	0,309	0,184
5,0	7,1	5,62	10,62	0,4708	0,5650	0,327	0,248
5,5	8,5	6,72	12,22	0,4501	0,4910	0,347	0,309
6,0	9,9	7,83	13,83	0,4338	0,4338	0,363	0,363
6,5	11,4	9,02	15,52	0,4188	0,3866	0,378	0,413
7,0	13,1	10,36	17,36	0,4032	0,3456	0,394	0,461
7,5	14,8	11,71	19,21	0,3904	0,3123	0,408	0,505
8,0	16,9	13,37	21,37	0,3744	0,2808	0,427	0,552
8,5	18,8	14,87	23,37	0,3637	0,2567	0,439	0,591
9,0	20,8	16,45	25,45	0,3536	0,2358	0,451	0,628
9,5	22,8	18,03	27,53	0,3451	0,2179	0,462	0,662
10,0	24,6	19,46	29,46	0,3394	0,2037	0,469	0,691
10,5	26,9	21,28	31,78	0,3304	0,1888	0,481	0,724
11,0	28,9	22,86	33,86	0,3249	0,1772	0,488	0,752
11,5	30,8	24,36	35,86	0,3207	0,1673	0,494	0,776
12,0	32,9	26,02	38,02	0,3156	0,1578	0,501	0,802
12,5	34,9	27,61	40,11	0,3116	0,1496	0,506	0,825
13,0	37,2	29,43	42,43	0,3064	0,1414	0,514	0,850
13,5	39,5	31,24	44,74	0,3017	0,1341	0,520	0,873
14,0	41,4	32,75	46,75	0,2995	0,1283	0,524	0,892
14,5	43,8	34,65	49,15	0,2950	0,1221	0,530	0,913
15,0	46,9	37,10	52,10	0,2879	0,1152	0,541	0,939
15,5	49,3	39,00	54,50	0,2844	0,1101	0,546	0,958
16,0	51,8	40,97	56,97	0,2808	0,1053	0,552	0,977
16,5	53,9	42,63	59,13	0,2790	0,1015	0,554	0,994
17,0	56,8	44,93	61,93	0,2745	0,0969	0,561	1,014
17,5	59,0	46,67	64,17	0,2727	0,0935	0,564	1,029
18,0	61,7	48,80	66,80	0,2695	0,0898	0,570	1,047
18,5	65,3	51,65	70,15	0,2637	0,0855	0,579	1,068
19,0	68,9	54,50	73,50	0,2585	0,0816	0,588	1,088
19,5	71,3	56,40	75,90	0,2569	0,0791	0,590	1,102
20,0	73,8	58,38	78,38	0,2552	0,0766	0,593	1,116
20,5	76,6	60,59	81,09	0,2528	0,0740	0,597	1,131
21,0	79,4	62,81	83,81	0,2506	0,0716	0,601	1,145
21,5	81,9	64,78	86,28	0,2492	0,0695	0,603	1,158
22,0	84,5	66,84	88,84	0,2476	0,0675	0,606	1,170
22,5	87,3	69,05	91,55	0,2458	0,0655	0,609	1,184
23,0	90,4	71,51	94,51	0,2434	0,0635	0,614	1,197
23,5	92,9	73,48	96,98	0,2423	0,0619	0,616	1,209
24,0	96,0	75,94	99,94	0,2401	0,0600	0,620	1,222
24,5	99,4	78,63	103,13	0,2376	0,0582	0,624	1,235

for plotting the graphs in Figures 1a, 1b, 2a, 2b and definition of parameters of the equation of solubility a and b of Table 2. The obtained results described as an example of the experience of determining the solubility of sucrose in aqueous acetone at 25 °C are reflected in the corresponding graph (Figure. 2^a). Thus, in the process of repeated titration, 42 points were obtained on the specified chart in the logarithmic coordinates $x = \lg C$ and $y = \lg P$, which gives the possibility after mathematical processing with great accuracy to define parameters a and b in the solubility equation (2) based on the obtained trend line equation

$$y = 3,3211x + 0,8518.$$

Obviously, in this case, $b = 3,32$ and $a = 100,8518 = 7,11$, that is, the equation of solubility of sucrose in water-based acetone at 25 oC has the form

$$P = 7,11C^{3,32}.$$

Results and discussion

The results of the study are shown in Figures 1a, 1b, 2a, 2b and in Table 2.

As it can be seen from the figures, at both temperatures of the study $T_1 = 298$ K and $T_2 = 275$ K the experimental dependences of solubility on the mass fraction of water in aqueous-organic solvents in logarithmic coordinates are well straightened, which confirms feasibility of the equation of solubility (2), thus the coefficient of inclination b of corresponding straight lines of a trend within the limits of error of measurements and calculations at transition from one temperature to another does not change.

The invariability of indicator b in the solubility equation (see Table 2) at two temperatures confirms the safety of stoichiometric coefficient

in the corresponding quasi-chemical equation of equilibrium, i.e. necessary for hydration of one carbohydrate molecule quantity of water molecules is preserved. So, for example, for hydration of glucose molecule in aqueous isopropanol requires two molecules of water, in aqueous acetone - an average of 2.57 molecules of water. In general, for the studied systems carbohydrate -water-organic solvent experimentally defined values b vary within 1.85-3.73, i.e., in the process of hydration involved about two to four molecules of water. In the case of water-based acetone, the amount of water molecules required for hydration is significantly higher than in the case of aqueous isopropanol.

Thus, the constancy of the physicochemical mechanism of carbohydrate solubility in this temperature range is confirmed.

The preservation of the dissolution mechanism allows using the ratio of equilibrium constants at different temperatures $n = a_1/a_2$ to determine the thermal effect - the calculation of enthalpy ΔH^0 and heat Q of the dissolution process, which corresponds to the stoichiometric equation. For this purpose we use the Van't Hoff' isobar in an integral form

$$\ln\left(\frac{a_1}{a_2}\right) = -\frac{\Delta H^0}{R}\left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right), \quad (3)$$

where ΔH^0 – enthalpy (J/mol); R – gas constant, equal to 8.31 J/mol, deg; a_1 and a_2 are equilibrium constants respectively at absolute temperatures T_1 and T_2 .

It is important to note that in the implementation of the solubility equation (2) at two temperatures T_1 and T_2 with the preservation of indicator b , the ratio of constants $n = a_1/a_2$ at the same time equal to the ratio of the corresponding solubility of carbohydrate P_1/P_2 at the set water content C in a binary water-organic solvent. Thus, the Van't Hoff' equation (3) for a given carbohydrate and a given solvent composition

Table 2

Coefficients of the equation of solubility of carbohydrates at temperatures $T_1 = 298$ K (a_1, b_1) u $T_2 = 275$ K (a_2, b_2)

Carbohydrate	Isopropanol					Acetone				
	a_1	b_1	a_2	b_2	a_1/a_2	a_1	b_1	a_2	b_2	a_1/a_2
Fructose	1,96	1,86	1,70	1,85	1,15	2,34	2,30	2,01	2,29	1,16
Glucose	1,74	2,01	0,49	2,00	3,55	2,22	2,57	0,62	2,57	3,58
Sucrose	2,57	2,11	1,26	2,11	2,04	7,11	3,32	3,56	3,32	2,00
Maltose	2,36	2,74	1,12	2,74	2,11	4,83	3,72	2,29	3,73	2,11

Figure 1a
Solubility of carbohydrates in isopropanol
at a temperature of 25°C

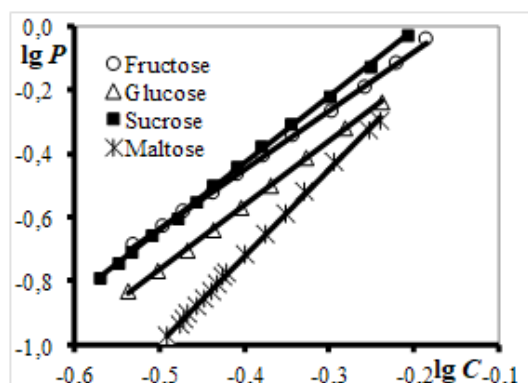


Figure 1b
Solubility of carbohydrates in isopropanol
at a temperature of 2°C

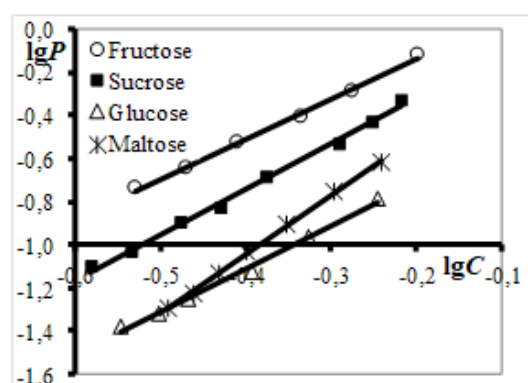


Figure 2a
Solubility of carbohydrates in acetone
at a temperature of 25°C

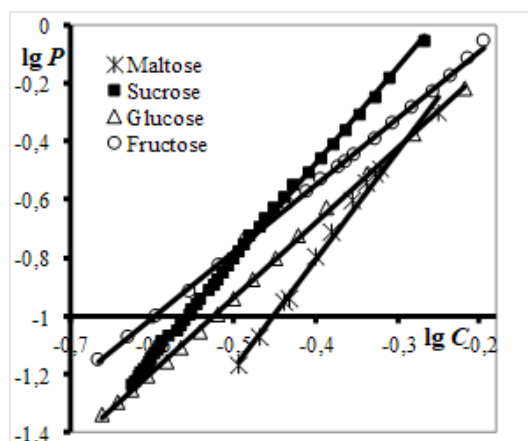
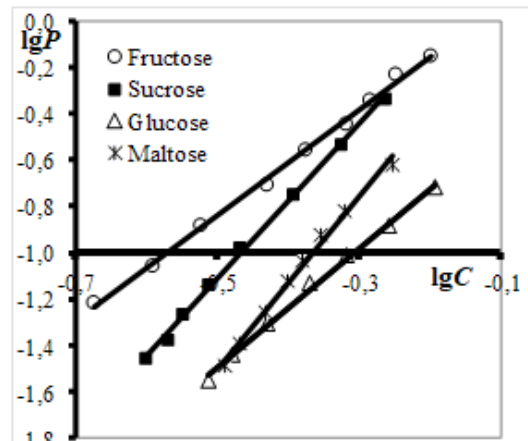


Figure 2b
Solubility of carbohydrates in acetone
at a temperature of 2°C



is essentially a carbohydrate solubility dependence on temperature.

The thermal effect of dissolution process Q is equal in absolute value to the change of enthalpy and is opposite in the sign $Q = -\Delta H^0$ [21]. Since the relative changes in coefficients n in the case of aqueous isopropanol and acetone were equal among themselves within the measurement error, the corresponding calculations for these two binary solvents are summarized in the general table (Table 3), in which the average of the two values of n are shown. Proximity of the relationship $n = a_1/a_2$ for different water-organic mediums indicates the main contribution to the thermal effect of carbohydrate dissolution of the hydration process and relatively small contribution of the process of solvation by organic solvent molecules.

Table 3
Enthalpy and the heat of dissolving carbohydrates in aqueous isopropanol and acetone

Carbohydrate	n	ΔH^0 , kJ/mol	Q , kJ/mol
Fructose	1,16	4,4	-4,4
Glucose	3,57	37,7	-37,7
Sucrose	2,02	20,8	-20,8
Maltose	2,11	22,1	-22,1

From Table 3 it can be seen that the heat of dissolution of carbohydrates in aqueous isopropanol and acetone is negative, that is, the process of dissolution of crystals occurs with heat absorption. The greatest amount of heat is absorbed at the dissolution of glucose, and the smallest - at the dissolution of

fructose; the thermal effects of the dissolution of sucrose and maltose are almost identical.

Using the values of ΔH^0 from the Table 3 in accordance with the Van't Hoff' equation (3) based on solubility data (Table 2) at a temperature of $T_1 = 298 \text{ K}$ (25°C), it is possible to calculate the solubility of carbohydrates at any temperature T_2 in the studied range of temperatures from 2°C to 25°C .

As an example, we determine the solubility of sucrose in a water solution containing 50 mas. % isopropanol ($C = 0.5$) at a temperature of 14°C (287 K). To do this, we use the Van't Hoff' equation (3), where $T_1 = 298 \text{ K}$ (25°C) and $T_2 = 287 \text{ K}$ (14°C). The value $a_1 = 2.57$ is taken from Table 2, and the value $\Delta H^0 = 20800 \text{ J/mol}$ is taken from table 3. Thus, in equation (2), all parameters except a_2 which value can be calculated are known. As a result of the calculation from equation (2), we get $a_2 = 1.86$. Since the value of parameter $b = 2.11$ remains the same as at the temperature of 298 K (25°C), the equation of solubility of sucrose in aqueous isopropanol has the form

$$P = 1,86C^{2,11}.$$

In particular from this equation for $C = 0.5$ we get

$$P = 1,86(0,5)^{2,11} = 0,431.$$

Thus, the solubility of sucrose in aqueous acetone containing 50 mas. % of water, at 14°C is 43 g in 100 g of mixed solvent ($P = 0.43$).

Knowledge of the temperature dependence of the solubility of carbohydrates in mixed water-organic solvents allows making practically important recommendations for an increase of efficiency of technological processes of separation and purification of glucose-fructose and glucose-maltose syrups previously developed by the author method of selective crystallization (Danilchuk, 2012; RU Patent №. 2347818, 2009; Danilchuk, 2016; RU Patent №. 2604288, 2016). For example, for any composition of aqueous isopropanol and acetone with a decrease in temperature from 25°C to 2°C according to the Table 3 the solubility of fructose falls in 1.16 times, and solubility of glucose in 3.57 times, that is, the solubility of fructose in relation to glucose in this case increases by $3,57/1,16 = 3.08$ times. The increase in the solubility ratio of fructose and glucose in aqueous isopropanol with a decrease in temperature from 25°C to 2°C significantly increases the efficiency of the process of separating of these carbohydrate by selective crystallization of glucose-fructose syrup, as it was established experimentally by us earlier (Danilchuk, 2012; RU Patent №. 2347818). The same decrease in temperature will reduce the separation

efficiency of glucose-maltose syrup (Danilchuk, 2016; RU Patent №. 2604288, 2016), since as it decreases the relative difference between the solubility of glucose and maltose by $3,57/2,11 = 1.69$ times due to the fact that the solubility of glucose falls faster than less soluble maltose. Therefore, in the latter case, it is recommended to conduct the process at the highest possible temperature. This recommendation applies equally to the separation of glucose-maltose syrup by isopropanol and acetone (Danilchuk, 2016).

It was interesting to conduct the processing of reference data (Simanova, 2004) on the solubility of sucrose in water-based ethanol within the framework of the above concept of the mechanism of solubility of carbohydrates and the connection of solubility with thermal effect. For this purpose tabular data from the reference book for temperature $T_1 = 313 \text{ K}$ (40°C) and $T_2 = 287 \text{ K}$ (14°C) in the field of change of ethanol concentration from 40 vol. % (33.30 mass %) up to 90 vol. % (85, 66 mass %) were plotted on the corresponding graphs in the coordinates of $\lg C - \lg P$ (Fig. 3).

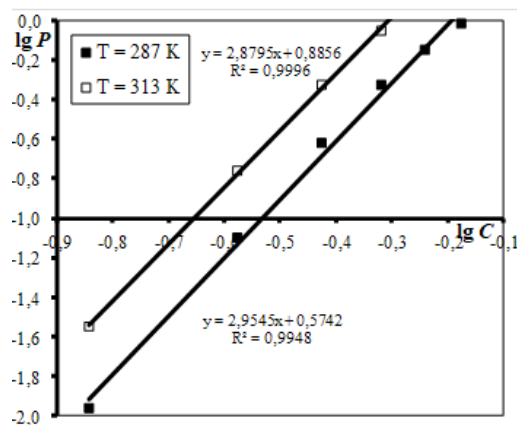
From Fig. 3, it can be seen that the slope coefficients of the trend line for two temperatures $b_1 = 2,88$ and $b_2 = 2,95$ have close values, given the measurement error. That means that in this range of temperatures from 14 to 40°C the mechanism of solubility of sucrose in ethyl alcohol is preserved and the corresponding solubility equations have the form

$$P = 7,68C^{2,88} \text{ for } T_1 = 313 \text{ K } (40^\circ\text{C}), \quad (4)$$

$$P = 3,75C^{2,95} \text{ for } T_2 = 287 \text{ K } (14^\circ\text{C}). \quad (5)$$

The preservation of the dissolution mechanism allows to use the ratio of coefficients $a_1/a_2 = 7,68/3,75 = 2,048$ to

Figure 3
Solubility of sucrose in ethanol at temperatures of 287 K (14°C) and 313 K (40°C) according to the handbook [6]



calculate the enthalpy ΔH^0 and heat Q of sucrose solubility in ethanol, substituting this ratio in the left part of the Van't Hoff' equation (3), which gives $\Delta H^0 = -20.6$ kJ/mol and $Q = -20.6$ kJ/mol. This result almost coincided with the data of table 3 for sucrose. Thus, the important conclusion of this work on weak dependence of the solubility of carbohydrates in water-organic solvents from the chemical nature of organic solvent at middle and high concentrations of the latter is confirmed. The main contribution to the thermal effect of solubility of carbohydrates makes the hydration process.

For comparison with the results of carbohydrate solubility obtained by us in aqueous isopropanol and acetone at 25 °C, we define the equation of sucrose solubility in water-based ethanol at the same temperature. As b , we take the average value of this indicator from the equations (4) and (5), which is 2.92. From the Van't Hoff' equation (3), we calculate the coefficient $a = 5.16$. Therefore, the sought for equation has the form

$$P = 5,16C^{2,92}. \quad (6)$$

With the help of this equation, we define, for example, the solubility of sucrose in ethanol containing 80 vol. % alcohol at a temperature of 25 °C. According to the reference data (Simanova, 2004) the mass fraction of ethanol in such a solvent is 73.5%, which corresponds to the water content $C = 0.265$, when substituting it into equation (6) we get $P = 0.107$, that is, in 100 grams of binary solvent dissolves 10.7 g of sucrose.

Conclusions

The dependence of the solubility of fructose, glucose, sucrose, and maltose in aqueous isopropanol and acetone at temperatures of 298 K (25 °C) and 275 K (2 °C) from water content in a solvent is studied. The constancy of the mechanism of dissolution of carbohydrates in these mediums in the given temperature interval is experimentally proved. The results of this work allowed to theoretically justify the applicability of the Van't Hoff' equation to the description of the temperature dependence of the solubility of carbohydrates in the water-containing organic solvents, which allows linking this dependence with the thermal effect of solubility. The results obtained, in general, are of great importance for optimizing the technology of extracting carbohydrates from plant raw materials, further purification and separation by selective crystallization.

The values of the thermal effect determined from experimental data allow calculating the solubility

of the studied carbohydrates in water-organic mediums in a temperature range from 2 °C to 25 °C. It has been established that the main contribution to the thermal effect of dissolving carbohydrates is made by the hydration process. Solvation by organic solvent molecules practically does not change the value of the specified thermal effect. It was revealed that the increase in the ratio of solubility of fructose and glucose in aqueous isopropanol with a decrease in temperature from 25 to 2 °C significantly increases the efficiency of the process of separating glucose and fructose by the method of selective crystallization of glucose-fructose syrup. The same decrease in temperature will reduce the separation effectiveness of glucose-maltose syrup, as it decreases the relative difference between the solubility of glucose and maltose due to the fact that the solubility of glucose falls faster than less soluble maltose. Therefore, in the latter case, it is recommended to carry out the process at the highest possible temperature.

The work was done within the framework of the President of the Russian Federation's grant № MD-3576.2015.4.

References

- Baghbanbashi, M., & Pazuki, G. (2014). A new hydrogen bonding local composition based model in obtaining phase behavior of aqueous solutions of sugars. *Journal of Molecular Liquids*, 195, 47-53.
- Danilchuk, Y. (2012). A new technique of fructose production by the method of GFS selective crystallization. *Sakhar [Sugar]*, 12, 41-49.
- Danilchuk, Y. (2016). Selective crystallization of maltose by isopropanol and acetone from glucose-maltose syrups. *Banat's Journal of Biotechnology*, 7(14), 120-125.
- Danilchuk, Yu. V., & Sidorenko, Yu. I. (2013). Solubility of carbohydrates in aqueous-organic media. *Doklady Physical Chemistry*, 453, Part 2, 279-281.
- Gabas, N., Carillon, T., & Hiquily N. (1988). Solubilities of D-xylose and D-mannose in water-ethanol mixtures at 25.degree.C. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 33, 128-120.
- Mohan, M. B. (2016). Solid liquid equilibrium of cellobiose, sucrose, and maltose monohydrate in ionic liquids: experimental and quantum chemical insights. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 61(9), 2923-2932.
- Montanes, F., Fornari, T., Statevac, R. P., Olanoa A., & Ibanez E. (2009). Solubility of carbohydrates in supercritical carbon dioxide with (ethanol +water) co-solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, 49, 16-22.

- Peres, A. M., & Macedo, E. A. (1997). A modified UNIFAC model for the calculation of thermodynamic properties of aqueous and non-aqueous solutions containing sugars. *Fluid Phase Equilibria*, 139, 47-74.
- Peres, A. M., & Macedo, E. A. (1997). Measurement and modeling of solubilities of d-glucose in water/alcohol and alcohol/alcohol systems. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 36, 2816-2820.
- Peres, A. M., & Macedo, E. A. (1997). Phase equilibria of d-glucose and sucrose in mixed solvent mixtures: Comparison of UNIQUAC 1-based models. *Carbohydrate Research*, 303, 135-151.
- Sapronov, A. (1998). *Technology of sugar production*. Kolos.
- Simanova, S. (2004). *New handbook of chemist and technologist. Chemical equilibrium. Properties of solutions*. ANO NPO «Professional».
- Spiliotis, N., & Tassios, D. (2000). A UNIFAC model for phase equilibrium calculations in aqueous and nonaqueous sugar solutions. *Fluid Phase Equilibria*, 173, 39-55.
- Teles, A. R. R., Dinis, T. B. V., Capela, E.V ., & Santos, L. M. N. B. F. (2016). Solubility and solvation of monosaccharides in ionic liquids. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18, 19722-19730.
- Tinjacá, D. A., Muñoz, M. M., Jouyban, A., Martínez, F., & Acree, W. E. (2019). Equilibrium solubility, preferential solvation and apparent specific volume of sucrose in some {cosolvent (1) + water (2)} mixtures at 298.2 K. *Physics and Chemistry of Liquids*, 57(2), 259-273.
- Wang, J., Liu, W., Bai T., & Lu, J. (1993). Standard gibbs energies of transfer of some electrolytes from water to aqueous sucrose solutions at 298.15 K. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 89(11), 1741-1744.
- Ye, T., Qu, H., & Gong, X. (2017). Measurement and correlation of liquid-liquid equilibria for the ternary systems of water + d-fructose + 1-butanol, water + d-glucose + 1-butanol, and water + d-galactose + 1-butanol at (288.2, 303.2 and 318.2) K. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 62(8), 2392-2399.
- Zhang, D., Montanes, F., Srinivas, K., Fornari, T., Ibanez, E., & King, J. W. (2010). Measurement and correlation of the solubility of carbohydrates in subcritical water. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 49, 6691-6698.

Тепловой эффект растворения углеводов в водно-органических средах

Данильчук Юлия Валерьевна¹

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Корреспонденция, касающаяся этой статьи, должна быть адресована Данильчук Ю.В., ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», адрес: 125080, город Москва, Волоколамское шоссе, дом 11, e-mail: dan_uv@mail.ru

Данная работа посвящена теоретическому обоснованию связи температурной зависимости растворимости углеводов с тепловым эффектом их растворения в водосодержащих органических растворителях, что имеет большое значение для оптимизации технологии их извлечения из растительного сырья и дальнейших очистки и разделения путем перекристаллизации. Изучена зависимость растворимости фруктозы, глюкозы, сахарозы и мальтозы в водных изопропанол и ацетоне при температурах 298 К (25°C) и 275 К (2°C) от содержания воды в растворителе. Экспериментально доказана неизменность механизма растворения углеводов в данных средах в приведенном интервале температур. Впервые на основе уравнения Вант-Гоффа строго обоснована аналитическая связь температурной зависимости растворимости и теплового эффекта растворения углеводов. Определенные по экспериментальным данным величины теплового эффекта позволяют рассчитать растворимость изученных углеводов в водно-органическом растворителе различной концентрации в диапазоне температур от 2°C до 25°C. Установлено, что основной вклад в тепловой эффект растворения углеводов вносит процесс гидратации. Сольватация молекулами органического растворителя практически не меняет величину указанного теплового эффекта. Показано значение полученных температурных зависимостей растворимости фруктозы, глюкозы и мальтозы для оптимизации технологических условий разделения глюкозно-фруктозных и глюкозно-мальтозных сиропов методом селективной кристаллизации.

Ключевые слова: растворимость, температурная зависимость, тепловой эффект, фруктоза, глюкоза, сахароза, мальтоза, изопропанол, ацетон.

Литература

- Baghbanbashi, M., & Pazuki, G. (2014). A new hydrogen bonding local composition based model in obtaining phase behavior of aqueous solutions of sugars. *Journal of Molecular Liquids*, 195, 47-53.
- Danilchuk, Y. (2012). A new technique of fructose production by the method of GFS selective crystallization. *Sakhar [Sugar]*, 12, 41-49.
- Danilchuk, Y. (2016). Selective crystallization of maltose by isopropanol and acetone from glucose-maltose syrups. *Banat's Journal of Biotechnology*, 7(14), 120-125.
- Danilchuk, Yu. V., & Sidorenko, Yu. I. (2013). Solubility of carbohydrates in aqueous-organic media. *Doklady Physical Chemistry*, 453, Part 2, 279-281.
- Gabas, N., Carillon, T., & Hiquily N. (1988). Solubilities of D-xylose and D-mannose in water-ethanol mixtures at 25.degree.C. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 33, 128-120.
- Mohan, M. B. (2016). Solid liquid equilibrium of cellobiose, sucrose, and maltose monohydrate in ionic liquids: experimental and quantum chemical insights. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 61(9), 2923-2932.
- Montanes, F., Fornari, T., Statevac, R. P., Olano A., & Ibanez E. (2009). Solubility of carbohydrates in supercritical carbon dioxide with (ethanol +water) co-solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, 49, 16-22.
- Peres, A. M., & Macedo, E. A. (1997). A modified UNIFAC model for the calculation of thermodynamic properties of aqueous and non-aqueous solutions containing sugars. *Fluid Phase Equilibria*, 139, 47-74.
- Peres, A. M., & Macedo, E. A. (1997). Measurement and modeling of solubilities of d-glucose in water/alcohol and alcohol/alcohol systems. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 36, 2816-2820.
- Peres, A. M., & Macedo, E. A. (1997). Phase equilibria of d-glucose and sucrose in mixed solvent mixtures: Comparison of UNIQUAC 1-based models. *Carbohydrate Research*, 303, 135-151.

Как цитировать

Данильчук, Ю. В. (2020). Тепловой эффект растворения углеводов в водно-органических средах. *Health, Food & Biotechnology*, 2(4). <https://doi.org/10.36107/hfb.2020.i4.s77>

- Sapronov, A. (1998). *Technology of sugar production*. Kolos.
- Simanova, S. (2004). *New handbook of chemist and technologist. Chemical equilibrium. Properties of solutions*. ANO NPO «Professional».
- Spiliotis, N., & Tassios, D. (2000). A UNIFAC model for phase equilibrium calculations in aqueous and nonaqueous sugar solutions. *Fluid Phase Equilibria*, 173, 39-55.
- Teles, A. R. R., Dinis, T. B. V., Capela, E.V., & Santos, L. M. N. B. F. (2016). Solubility and solvation of monosaccharides in ionic liquids. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18, 19722-19730.
- Tinjacá, D. A., Muñoz, M. M., Jouyban, A., Martínez, F., & Acree, W. E. (2019). Equilibrium solubility, preferential solvation and apparent specific volume of sucrose in some {cosolvent (1) + water (2)} mixtures at 298.2 K. *Physics and Chemistry of Liquids*, 57(2), 259-273.
- Wang, J., Liu, W., Bai T., & Lu, J. (1993). Standard gibbs energies of transfer of some electrolytes from water to aqueous sucrose solutions at 298.15 K. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 89(11), 1741-1744.
- Ye, T., Qu, H., & Gong, X. (2017). Measurement and correlation of liquid-liquid equilibria for the ternary systems of water + d-fructose + 1-butanol, water + d-glucose + 1-butanol, and water + d-galactose + 1-butanol at (288.2, 303.2 and 318.2) K. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 62(8), 2392-2399.
- Zhang, D., Montanes, F., Srinivas, K., Fornari, T., Ibanez, E., & King, J. W. (2010). Measurement and correlation of the solubility of carbohydrates in subcritical water. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 49, 6691-6698.
- Alcohol and Alcohol/Alcohol Systems. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 36, 2816-2820.
- Peres, A.M., Macedo, E.A. (1997). Phase equilibria of d-glucose and sucrose in mixed solvent mixtures: Comparison of UNIQUAC 1-based models. *Carbohydrate Research*, 303, 135-151.
- Sapronov, A. (1998). *Technology of sugar production*. Moscow: Kolos.
- Simanova, S. (2004). *New handbook of chemist and technologist. Chemical equilibrium. Properties of solutions*. Saint Petersburg: ANO NPO «Professional».
- Spiliotis, N., Tassios, D. (2000). A UNIFAC model for phase equilibrium calculations in aqueous and nonaqueous sugar solutions. *Fluid Phase Equilibria*, 173, 39-55.
- Teles, A.R.R., Dinis, T.B.V., Capela, E.V., Santos, L.M.N.B.F. (2016). Solubility and solvation of monosaccharides in ionic liquids. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18, 19722-19730.
- Tinjacá, D.A., Muñoz, M.M., Jouyban, A., Martínez, F., Acree, W.E. (2019). Equilibrium solubility, preferential solvation and apparent specific volume of sucrose in some {cosolvent (1) + water (2)} mixtures at 298.2 K. *Physics and Chemistry of Liquids*, 57(2), 259-273.
- Wang, J., Liu, W., Bai T., Lu, J. (1993). Standard Gibbs Energies of Transfer of some Electrolytes from Water to Aqueous Sucrose Solutions at 298.15 K. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 89(11), 1741-1744.
- Ye, T., Qu, H., Gong, X. . (2017). Measurement and Correlation of Liquid-Liquid Equilibria for the Ternary Systems of Water + D-Fructose + 1-Butanol, Water + D-Glucose + 1-Butanol, and Water + D-Galactose + 1-Butanol at (288.2, 303.2 and 318.2) K. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 62(8), 2392-2399.
- Zhang, D., Montanes, F., Srinivas, K., Fornari, T., Ibanez, E., King, J. W. (2010). Measurement and Correlation of the Solubility of Carbohydrates in Subcritical Water. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 49, 6691-6698.

Перспективы использования комплексных добавок из природного сырья при разработке хлебобулочных изделий функциональной направленности

Ткач Анастасия Николаевна¹, Корпачева Светлана Михайловна²

¹ ФБГОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА им. Тимирязева»

² ФБГОУ ВО «Новосибирский государственный технический университет»

Корреспонденция, касающаяся этой статьи, должна быть адресована Ткач А.Н., адрес: 127550, город Москва, Лиственничная аллея, 16а к2, e-mail: smile.lol.usa@list.ru

Хлебобулочные изделия – это одни из наиболее перспективных объектов для конструирования пищевых продуктов функционального назначения, так как они являются излюбленным компонентом пищевого рациона россиян и отличаются низким содержанием минеральных веществ, витаминов, пищевых волокон, дефицит которых является серьезной проблемой. В связи с этим, актуальна разработка технологий хлебобулочных изделий с использованием вторичных продуктов переработки сырья и природных источников биологически активных веществ. В статье приведены результаты исследования возможности использования комплексных добавок из природного сырья при производстве хлебобулочных изделий. В качестве добавок использовали сухую подсырную деминерализованную сыворотку, овощные и плодово-ягодные порошки ИК-сушки (из свеклы, моркови, клюквы, рябины). Порошки были получены в результате инфракрасной сушки с последующим механохимическим измельчением. Порошки после инфракрасной сушки при температуре 60-70°C в течение 180-240 мин измельчали в стружку со среднеэквивалентным размером частиц 125-140 мкм. Нами были разработаны технологии и рецептуры новых хлебобулочных изделий с комплексными вышеперечисленными добавками. Готовые изделия исследовали по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям качества. По показателям качества и безопасности образцы соответствуют требованиям нормативной документации. Применение добавок при выпечке хлебобулочных изделий улучшает пищевую ценность готовой продукции, при этом повышается содержание белка, минеральных веществ, клетчатки, в том числе повышается антиоксидантная активность. Совместное использование этих добавок существенно улучшает потребительские свойства разработанных хлебобулочных изделий, что позволяет получить новую продукцию функциональной направленности.

Ключевые слова: ИК-сушка, порошки, сухая деминерализованная сыворотка, хлебо-булочные изделия, функциональные продукты

Введение

Хлебобулочные изделия относятся к продуктам повседневного спроса. Эти товары являются стратегическими, так как играют важнейшую роль в обеспечении продовольственной независимости и безопасности страны. Это особенно важно в настоящее время в связи с тяжелой социально-экономической и демографической обстановкой в России.

Перспективное направление развития ассортимента хлебобулочных изделий повышенной пищевой ценности – это применение в их производстве натуральных растительных пищевых ингредиентов, которые могли бы служить дополнительным источником необходимых макро и микронутриентов¹. Хлебобулочные изделия входят в ежедневный рацион питания людей, следовательно, целесообразно оптимизировать их, обогащая пищевыми

¹ Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года: распоряжение правительства РФ от 29 июня 2016 г. № 1364-р.

волокнами, минеральными веществами, снижая их калорийность.

Одним из видов сырья, которое используется в комплексе с мукой при производстве хлебобулочных изделий – овсяные хлопья, которые являются источником пищевых волокон. Овсяные хлопья являются диетическим продуктом и лечебным средством при хронических воспалительных заболеваниях для населения всех возрастов. В зерне овса содержатся ферменты, витамины групп В, Е, А, холин, тирозин, эфирное масло, медь, сахар, тригонеллин, минеральные соли - фосфорные, кальциевые. Аминокислотный состав овсяной крупы является наиболее близким к мышечному белку, что делает ее особенно ценным продуктом.

Также подсырная сыворотка является ценным сырьем при производстве хлебобулочных изделий. Сыворотка имеет высокую биологическую ценность, обусловленную содержанием в ней белков, незаменимых аминокислот, лактозы, минеральных веществ.

С целью обогащения изделий антиоксидантами, повышения витаминно-минерального состава в разработанные рецептуры хлебобулочных изделий вводились растительные порошки инфракрасной обработки. Природные компоненты, присутствующие в растительном сырье, обладают не только пищевой ценностью и определенными вкусовыми свойствами, но и способностью влиять на многочисленные функции и реакции организма человека, что, в свою очередь, является важнейшим фактором сохранения, улучшения здоровья и снижения риска возникновения заболеваний (Аширова, Бычкова, Васюкова, 2012). Применение в хлебопечении растительных порошков, полученных с использованием инфракрасной сушки (ИК-сушки) позволит сохранить в сухом сырье максимальное количество биологически активных веществ.

Инфракрасная сушка продуктов - это процесс ускоренного испарения влаги за счет воздействия инфракрасного излучения. Именно инфракрасные лучи так влияют на молекулярную структуру продукта, что при этом сохраняются витамины, биологически активные вещества, естественный цвет, вкус и аромат подвергающихся сушке продуктов. **Инфракрасная сушка** продуктов основывается на том, что влага в продукте активно поглощается инфракрасным излучением, проникающим на глубину до 12 мм. Но при этом излучение не поглощается тканью высушиваемого продукта, поэтому инфракрасная сушка возможна при температуре 40-60 °С.

Инфракрасная сушка продуктов делает их устойчивыми к развитию микрофлоры. Не требуется специальных условий хранения. Необходимо обеспечить низкую влажность в помещении хранения, при этом срок годности порошков ИК-сушки составит год. За это время уровень содержания в них витаминов снижается не более чем на 5-15%. Повысить срок хранения продуктов можно с помощью герметичной упаковки (Sandhu, 2014).

Минеральные вещества и витамины, содержащиеся в растительных порошках ИК-сушки, усваиваются полностью в отличие от искусственных витаминно-минеральных комплексов, стоимость которых значительно выше.

В качестве сырья при разработке новых хлебобулочных изделий использовались растительные порошки ИК-сушки свеклы, моркови, клюквы и рябины.

Многими исследователями, в том числе С.Я. Корячкиной изучено применение порошка из сахарной свеклы в производстве хлебобулочных изделий. Внесение свекольного порошка в рецептуру хлебобулочных изделий способствует снижению вязкости теста, улучшению органолептических показателей, также положительно влияет на качество эмульсии теста. Кроме того, порошок сахарной свеклы содействует упрочнению структуры теста (Корячкина, Баранов, 1986).

В Одесской национальной академии пищевых технологий было исследовано влияние добавки морковного порошка на физико-химические и структурно-механические свойства теста. Использование морковного порошка позволяет получить продукт функционального назначения за счет необходимых для жизнедеятельности человека микронутриентов растительного происхождения. В морковном порошке наблюдается наиболее благоприятное для усвоения соотношение Са и Р (1,0:1,1) и близкое к оптимальному Са и Mg (1,0:0,92). Порошок содержит витамины: аскорбиновую кислоту (26,50...29,88 мг %) и β-каротин (86...120 мг %). Белки морковного порошка содержат все незаменимые аминокислоты. Установлено также, что в морковном порошке количество валина, лейцина, лизина, фенилаланина больше, чем в пшеничной муке. Содержание в порошке неусвояемых углеводов (клетчатки) и пектиновых веществ является важным физиологическим фактором в питании. Внесение в рецептуру морковного порошка позволит повысить пищевую ценность и улучшить органолептические показатели изделий (Перфилов, Винницкий, & Скрипников, 2008).

Порошок ИК-сушки из плодов рябины характеризуется высоким содержанием пищевых волокон, пектиновых веществ, витаминов, в особенности витамина С, макро- и микроэлементов.

Применение клюквенного порошка для приготовления хлебобулочных изделий представляется целесообразным ввиду высокого содержания пищевых волокон (около 46%), органических кислот (~ 18%), редуцирующих сахаров (~12,5), флавоноидов, макро- и микроэлементов и витаминов, в особенности аскорбиновой кислоты и органических кислот (Перфилов, Винницкий, & Скрипников, 2008).

Порошок клюквы содержит бензойную кислоту, обладающую противомикробным действием, следовательно, имеет значение для предупреждения плесневения в процессе хранения готовых хлебобулочных и мучных кондитерских мучных изделий и увеличения их сроков хранения.

Порошки представляют собой однородную сыпучую массу, цвет свойственный тому сырью, из которого изготовлен порошок, с выраженным вкусом соответствующего сырья (Sandhu, 2014).

Вследствие анализа литературных данных по созданию ассортимента хлебобулочных изделий были выбраны следующие выше перечисленные добавки.

Анализ материалов опубликованных научных исследований показывает, что добавки из природного сырья имеют огромный потенциал для здоровья человека и могут использоваться для обогащения и расширения ассортимента хлебобулочных изделий.

Целью данной работы является разработка новых видов хлебобулочных изделий с использованием традиционных и нетрадиционных видов сырья, с такими как: сухая подсырная деминерализованная сыворотка, растительные добавки в виде ИК-порошков (из свеклы, моркови, клюквы и рябины) и пищевые волокна (овсяные хлопья).

Для достижения цели решались следующие задачи:

- обосновать выбор функциональных добавок и определить их оптимальную дозировку;
- исследовать добавки по физико-химическим показателям;

- разработать рецептуры и технологии приготовления хлебобулочных изделий на основе сухой подсырной сыворотки с растительными добавками;
- исследовать готовые изделия по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям качества;
- обосновать функциональные свойства новых хлебобулочных изделий.

Объектами исследований служили добавки из природного сырья и образцы хлебобулочных изделий с использованием сухой подсырной сыворотки с растительными добавками в следующем ассортименте:

- образец №1 – булочка «Молочная»² – контрольный образец;
- образец №2 – булочка «Морковная», с добавлением морковного порошка ИК-сушки;
- образец №3 – булочка «Свекольная», с добавлением свекольного порошка ИК-сушки;
- образец №4 – булочка «Клюквенная», с добавлением клюквенного порошка ИК-сушки;
- образец №5 – булочка «Рябиновая», с добавлением рябинового порошка ИК-сушки.

Методы исследования

Оптимальное соотношение основных компонентов было определено с помощью математического моделирования путем решения задач линейного программирования с использованием программного продукта MatLab. При этом целевой функцией являлось определение содержания в готовых образцах пищевых веществ (белка, β -каротина, пищевых волокон) в количествах, обеспечивающих функциональность изделий.

Преимуществами автоматизированного проектирования рецептур при разработке функциональных продуктов питания является возможность регулирования их химического состава путём комбинирования соотношения отдельных компонентов с учётом их свойств и конечного назначения продуктов. Это научное направление исследований, которое позволяет разрабатывать состав сложных многокомпонентных продуктов с указанным комплексом качественных и количественных показателей (Sharma, Verma, & Pathare, 2016).

Готовые изделия были исследованы по органолептическим, физико-химическим и микробиоло-

² Сборник рецептур мучных и кондитерских изделий: Хлебпродинформ, (1996).

гическим показателям. Результаты проведенных исследований, свидетельствуют о том, что хлебобулочные изделия обогащены минеральными веществами, пищевыми волокнами, пектином и антиоксидантами.

При физико-химическом анализе были определены следующие показатели:

- Влажность (ГОСТ 5900-2014);
- Зольность (ГОСТ 5901-2014);
- Кислотность (ГОСТ 5670-96);
- Содержание клетчатки (ГОСТ 13496.15-97);
- Пористость (ГОСТ 5669-96);
- Антиоксидантная активность (ГОСТ Р 54037-2010);
- Содержание β -каротина (ГОСТ EN 12823-2-2014);
- Массовая доля белка (ГОСТ 14252-73);
- Водорастворимые вещества (ГОСТ Р ИСО 9768-2011).

Определение антиоксидантной активности проводилось в соответствии с утвержденной методикой (№ 20706-05 Методики выполнения измерения водорастворимых антиоксидантов № 31-07 от 4.05.2007) в Институте химии твердого тела и механохимии СО РАН. Проводили экстракцию образца водой при гидромодуле 1:200 в ультразвуковой бане в течение 30 минут. Твердую часть отделяли центрифугированием, фильтрованием на бумажном фильтре и мембране 0,45 мкм. 1 см³ супернатанта доводился до объема 100см³. В качестве рабочего раствора использовалась фосфорная кислота 2,3*10⁻³ моль/л. Полученные растворы анализировались на анализаторе антиоксидантной активности Цвет ЯУЗА-01- АА (№ ФСР 2009/06380) при разности потенциалов 1,3 В, скорости подачи вещества – 1,2 мл/мин. В качестве стандарта использовались растворы кверцетина 98+% с концентрацией 0,2-2,0 мг/мл. Размер частиц: определялся методом дифракции лазерного луча на приборе Microsizer 201.

Анализ данных

Эффективность использования добавок в разных соотношениях при производстве хлебобулочных изделий определяли по содержанию пищевых веществ в добавках, обеспечивающих их функциональные свойства, и по качеству готовых хлебобулочных изделий. Определение основных показателей в эксперименте проводили в четырехкратной повторности. Полученные экспериментальные данные обрабатывали с помощью компьютера в программе MatLab.

Результаты и их обсуждение

В ходе исследований были определены дозы вносимых добавок в рецептуры хлебобулочных изделий и их физико-химический состав, обуславливающий функциональные свойства.

Физико-химический состав растительных порошков ИК-сушки и их антиоксидантная активность представлены в Таблице 1.

Из таблицы видно, что порошки обладают высокими показателями пищевой ценности и антиоксидантной активностью и могут быть использованы в качестве ингредиентов при разработке продукции функционального назначения.

Далее на основе этих добавок были разработаны рецептуры хлебобулочных изделий.

Булочка «Рябиновая» и «Клюквенная» готовилась с использованием сыворотки и овсяных хлопьев (10% и 18% от количества муки), с применением порошка ИК-сушки из рябины и клюквы, измельченных механоферментированным способом в количестве 3% и 3% от общего количества муки соответственно.

Таблица 1
Физико-химические показатели качества исследуемых образцов

Показатели	Единицы измерения	Содержание веществ в 100 г			
		ИК-порошок моркови	ИК-порошок клюквы	ИК-порошок свеклы	ИК-порошок рябины
Влажность	%	14,0 ± 0,01	16,0 ± 0,02	8,80 ± 0,01	5,7 ± 0,01
Сырой протеин	%	8,10 ± 0,02	0,07 ± 0,01	14,51 ± 0,02	5,45 ± 0,01
Сырой жир	%	1,5 ± 0,1	1,37 ± 0,20	0,96 ± 0,12	4,48 ± 0,01
Сахара	%	63,90 ± 0,14	68,08 ± 0,15	50,92 ± 0,11	25,37 ± 0,21
Клетчатка	%	7,20 ± 0,11	5,70 ± 0,14	4,30 ± 0,20	5,74 ± 0,03

Таблица 1

Показатели	Единицы измерения	Содержание веществ в 100 г			
		ИК-порошок моркови	ИК-порошок клюквы	ИК-порошок свеклы	ИК-порошок рябины
Крахмал	%	0,8 ± 0,1	1,66 ± 0,13	3,32 ± 0,15	-
Пектин	%	1,50 ± 0,12	4,10 ± 0,11	8,72 ± 0,09	1,10 ± 0,11
Сырая зола	%	3,0 ± 0,01	3,20 ± 0,02	8,47 ± 0,01	2,86 ± 0,04
Минеральные вещества:					
Na	мг	59,0 ± 0,1	3,61 ± 0,07	35,85 ± 0,10	0,3 ± 0,09
K	мг	967,0 ± 0,2	54,08 ± 0,12	54,08 ± 0,18	12,0 ± 0,014
Ca	мг	105,0 ± 0,14	2,05 ± 0,15	2,05 ± 0,20	0,339 ± 0,04
Mg	мг	56,0 ± 0,2	2,36 ± 0,21	2,36 ± 0,11	1,57 ± 0,09
Fe	мг	3,0 ± 0,1	1,5 ± 0,1	0,06 ± 0,10	102,0 ± 0,18
Витамины:					
β-каротин	мг%	0,67 ± 0,07	-	-	12,51 ± 0,15
Витамин С	мг%	11,0 ± 0,1	17,60 ± 0,1	15,20 ± 0,1	70 ± 0,03
АОА	мкг кверцетина/ г продукта	0,25 ± 0,08	1,2 ± 0,2	8,9 ± 0,9	5,6 ± 0,2

Булочки «Свекольная» и «Морковная» готовилась с использованием сыворотки и овсяных хлопьев (10% и 18% от количества муки), с применением порошка ИК-сушки из свеклы и моркови, измельченных механоферментированным способом в количестве 7% и 7% от общего количества муки соответственно.

Готовые хлебобулочные изделия были исследованы по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям, определенные согласно стандартным методикам.

Для объективного контроля качества образцов применялся метод органолептической оценки, который заключается в прямой рейтинговой оценке качества, в соответствии с требованиями нормативной документации (ГОСТ 5667-65³, ГОСТ 31805-2012⁴).

Органолептическая оценка хлебобулочных изделий представлена в Таблице 2.

Органолептическая оценка новых хлебобулочных изделий показала, что они характеризуются приятным внешним видом, хорошим вкусом, цветом и запахом, пористой консистенцией, цвет корочки

и мякиша стал более насыщенным по сравнению с контрольным образцом благодаря внесенным порошкам ИК-сушки.

Физико-химические показатели качества, определенные стандартными методами, соответствуют нормативам. Результаты исследования представлены в Таблице 3.

С учетом нормы физиологической потребности β-каротина (5 мг/сутки) и процента функциональности 15% (0,75 мг) установлено, что образцы № 2 и № 5 (Булочки «Морковная» и «Рябиновая») восполняют 15% от нормы потребления β-каротина, что свидетельствует об ее функциональности.

С учетом нормы физиологической потребности в белке (90 г/сутки) и процента функциональности 10% (9 г) установлено, что все образцы восполняют 10% от нормы потребления белка.

За счет добавления в рецептуры овсяных хлопьев изделия являются обогащенными клетчаткой, то есть восполняют более 10 % от суточной потребности.

Хлебобулочные изделия были исследованы на наличие микробиологической обсемененности.

³ ГОСТ 5667-65. Хлеб и хлебобулочные изделия. Правила приемки, методы отбора образцов, методы определения органолептических показателей и массы изделий (с Изменениями N 1, 2, 3)

⁴ ГОСТ 31805-2012. (2013). Изделия хлебобулочные из пшеничной муки. Общие технические условия.

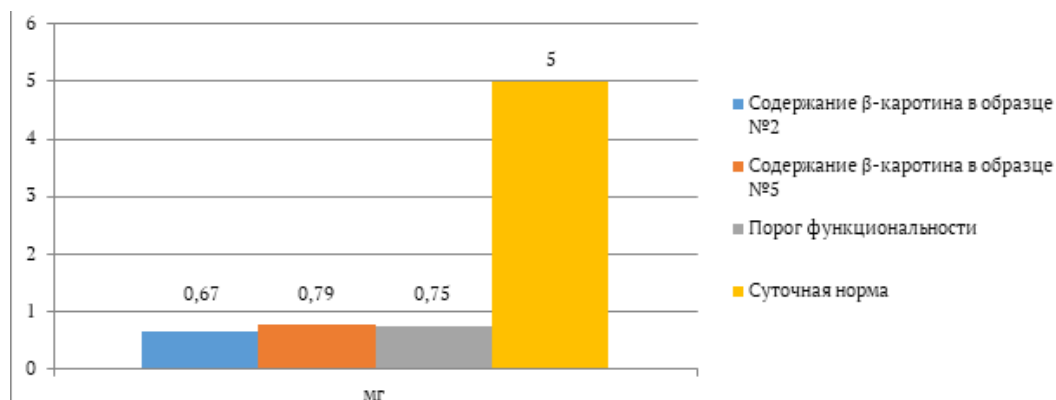
Таблица 2
Органолептическая оценка хлебобулочных изделий

Показатели качества	Коэффициент значимости	Средний оценочный балл, баллы				Комплексная оценка, баллы			
		Клюквенная	Свекольная	Морковная	Рябиновая	Клюквенная	Свекольная	Морковная	Рябиновая
Внешний вид	3	4,9±0,1	4,9±0,1	4,9±0,1	4,8±0,3	14,7±0,3	14,7±0,6	14,7±0,1	14,4±0,9
Запах	4	4,9±0,2	4,8±0,3	4,9±0,2	4,8±0,1	19,2±0,8	19,6±0,8	19,7±0,8	19,2±0,4
Вкус	6	4,8±0,3	4,9±0,2	4,9±0,2	4,7±0,2	29,4±1,2	29,8±1,1	29,8±1,2	28,2±1,2
Цвет	2	4,7±0,2	4,9±0,1	4,9±0,1	4,7±0,2	9,6±0,2	9,7±0,2	9,8±0,2	9,4±0,4
Консистенция	5	4,8±0,1	4,8±0,2	4,9±0,2	4,7±0,1	23,5±1,0	23,5±1,0	24,0±0,5	23,5±0,5
Суммарная комплексная оценка	20	-	-	-	-	96,6±3,5	97,3±3,7	98±2,8	94,7±1,4
Общая оценка	-	4,8±0,2	4,8±0,2	4,9±0,1	4,7±0,2	-	-	-	-

Таблица 3
Физико-химические показатели качества образцов хлебобулочных изделий

Наименование показателя	Образцы хлебобулочных изделий				
	Молочная	Рябиновая	Клюквенная	Свекольная	Морковная
Массовая доля сухих веществ, %	62±0,10	62±0,50	68,3±0,12	72±0,15	70±0,40
Пористость изделий, %	62,9±0,55	77,1±0,12	78,0±0,60	82,0±0,001	89,0±0,21
Сырая клетчатка, %	0,05	1,05	0,18	0,58	0,95
Зольность, %	6,56±0,01	27,2±0,04	12,2±0,04	28,3±0,04	30,4±0,04
Белок, г	4,5	10,68	9,91	9,62	11,56
Кислотность, °Н	2,8±0,01	1,6±0,01	1,4±0,01	1,2±0,01	0,8±0,01
β-каротин, мг/г	-	0,79±0,07	-	-	0,67±0,07
АОА, мкг		140±0,5	116±0,4	115±0,4	141±0,8

Рисунок 1
Восполнение суточной потребности в β-каротине в образцах хлебобулочных изделий, мг/сут¹



¹ МР 2.3.1.1915-04. (2004). Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ. Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России.

Рисунок 2
Содержание белка в хлебобулочных изделиях, г



Установлено, что во всех исследуемых образцах не обнаружены бактерии группы кишечной палочки, *S. Aureus* и патогенных микроорганизмов рода *Salmonella*, что свидетельствует о соблюдении санитарного режима при производстве и требований технического регламента (ТР ТС 021/011⁵).

Заключение

В ходе данной работы были разработаны рецептуры и технологии хлебобулочных изделий на основе использования комплекса добавок из природного сырья (сухой подсырной деминерализованной сыворотки с добавлением растительных порошков ИК-сушки из свеклы, моркови, клюквы и рябины).

С помощью математического моделирования определены дозы вносимых добавок и подтверждена оптимальность выбранной рецептуры, на основании которого были приготовлены новые хлебобулочные изделия.

По результатам органолептической оценки изделия имеют хорошую пористость и состояние мякиша, улучшенные потребительские свойства.

По результатам физико-химических показателей качества разработанные изделия являются продуктами функционального назначения, восполняющими более 15% от суточной потребности по содержанию β -каротина и белка.

Таким образом, внесение в рецептуру хлебобулочных изделий добавок из природного сырья позволит повысить пищевую ценность и улучшить органолеп-

тические показатели продукта за счет необходимых для жизнедеятельности человека микронутриентов растительного происхождения, а также сделать изделия функциональной направленности.

Литература

- Волончук, С. В., & Шорникова, Л. П. (1998). Полноценное питание и инфракрасная сушка растительного сырья. *Пищевая промышленность*, 5, 16–17.
- Корячкина, С., & Баранов, В. (1986). *Овощи в производстве мучных изделий*. Кемеровский технологический институт пищевой промышленности.
- Перфилов, О. В, Винницкий, В. Ф., & Скрипников, Ю. Г. (2008). *Использование порошков из плодовоовощных выжимок с целью расширения ассортимента мучных кондитерских изделий*. Пищевая промышленность.
- Аширова, Н. Н., Бычкова, Е. С., & Васюкова, А. Н. (2012). Реализация концепции здорового питания населения: состояние и перспективы. Изд-во НГТУ.
- Chipault, J. R. (1962). Antioxidants for use in foods. In W. O. Lundber (Ed.), *Autooxidation and antioxidants*, Wiley.
- Collar, C., & Angioloni, A. (2014). Nutritional and functional performance of high β -glucan barley flours in breadmaking: Mixed breads versus wheat breads. *European Food Research and Technology*, 238(3), 459-469.
- Combs, F. G. Jr. (Ed). (2008). *The vitamins. Fundamental aspects in nutrition and health*. Elsevier Academic Press.
- Fitzgerald, C., Gallagher, E., Doran, L., Auty M., Prieto, J. M., Hayes, M. (2014). Increasing the health benefits of bread: Assessment of the physical and sensory qualities of bread formulated using a renin inhibitory *Palmaria palmata* protein hydrolysate. *Food Science and Technology*, 56 (2), 398-405. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.031>
- Granato D., Branco, G. F., Nazzaro, F., Cruz, A. G., & Faria, J. A. (2010). Functional foods and food development: Trends, concepts, and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(3), 292–302.
- Kadam, S., & Prabhasankar, P. (2010). Marine foods as functional ingredients in bakery and pasta products. *Food Research International*, 43, 1975-1980.
- Ktenioudaki, A., & Gallagher, E. (2012). Recent advances in the development of high-fiber baked products. *Trends Food Science Technology*, 28, 4-14.

⁵ ТР ТС 021/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции», утверждённый Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года № 880.

- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., & Salunkhe, D. K. (1996). *Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives*. Marcel Dekker, Inc.
- Menezes, B. S., Coelho, M. S., Meza, S. L. R., & Salas-Mellado, M. (2015). Macroalgal biomass as an additional ingredient of bread. *International Food Research Journal*, 22(2), 812-817
- Milner, J. A. (2013). Functional foods and health promotion. *Journal of Nutrition*, 7(129), 1395–1397.
- Rahaie, S., Gharibzahedi, S., Razavai, H., & Jafari, S. M. (2012). Recent developments on new formulations based on nutrient-dense ingredients for the production of healthy-functional bread: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(11), 2896-2906.
- Rosell, C. M., Santos, E., & Collar, C. (2009). Physico-chemical properties of dietary fibers from different sources: A comparative approach. *Food Research International*, 42(1), 176-184.
- Rózyło, R., Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., & Jakubczyk, A. (2014). Wheat bread with pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) pulp as a functional food product. *Food Technology and Biotechnology*, 52(4), 430-438.
- Sagawa, T. I. H., & Kato, I. (2003). Fucooidan as functional food stuff. Structure and biological potency. *Japanese Journal of Phycology (Sorui)*, 51, 19-20.
- Sandhu, C. (2014). Infrared radiative drying in food engineering: Aprocess analysis. *Biotechnology Progress*, 2, 109-119.
- Sharma, G. P., Verma, R. C., & Pathare, P. (2016). Mathematical modeling of infrared radiation thin layer drying of vegetables. *Journal of Food Engineering*, 282-286.
- Sienkiewicz, T., & Riedel, C.-L. (2010). Utilization of Whey. In Th. Mann (Ed.), *Whey and Whey Utilization*. Gelsenkirchen-Buer.
- Siess, H., & Stahl, W. (2017). Antioxidant functions of vitamins - vitamin E and vitamin C, *B*-carotene, and other carotenoids. *International Journal for Vitamin Nutrition Research*, 67, 364-367.
- Šoronja Simović, D., Filipović, N., Šereš, Z., Gyura, J., Jokić, A., & Pajin, B. (2010). Optimization of the formula of bread enrichment with sugar beet fibres. *Acta Aliment*, 39(4), 481-490.
- Wildman Robert, E. C. (2017). *Handbooks of nutraceuticals and functional foods*. GRS Press.

Prospects for the Use of Complex Additives from Natural Raw Materials in the Development of Functional Bakery Products

Anastasiia N. Tkach¹, Svetlana M. Korpacheva²

¹ “Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after Timiryazev”

² “Novosibirsk State Technical University”

Correspondence concerning this article should be addressed to Anastasiia N. Tkach, Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after Timiryazev, 1127550, Moscow, Listvennichnaya alley, 16^a k2, e-mail: smile.lol.usa@list.ru

The development of innovative technologies for the processing of agricultural raw materials to obtain new types of functional and enriched food products is one of the directions for the development of scientific research in the field of food quality, set out in the document “Strategy for improving the quality of food products in the Russian Federation until 2030”. Bakery products are one of the most promising objects for the design of functional food products, since they are a favorite component of the diet of Russians and are characterized by a low content of minerals, vitamins, dietary fiber, the deficiency of which is a serious problem. In this regard, the development of technologies for bakery products using secondary products of raw materials processing and natural sources of biologically active substances is relevant. The article presents the results of a study of the possibility of using complex additives from natural raw materials in the production of bakery products. As additives, we used dry cheese demineralized whey, vegetable and fruit and berry powders of infrared drying (from beets, carrots, cranberries, mountain ash). The powders were obtained by infrared drying followed by mechanochemical grinding. After infrared drying at a temperature of 60-70 °C for 180-240 min, the powders were crushed into chips with an average equivalent particle size of 125-140 microns. We have developed technologies and recipes for new bakery products with the complex additives listed above. The finished products were examined for organoleptic, physicochemical and microbiological quality indicators. In terms of quality and safety, the samples meet the requirements of regulatory documents. The use of additives in baking bakery products improves the nutritional value of finished products, while the content of protein, minerals, fiber increases, including an increase in antioxidant activity. The combined use of these additives significantly improves the consumer properties of the developed bakery products, which makes it possible to get new functional products.

Key words: IR-drying, powders, dry demineralized whey, bakery products, functional products

References

- Volonchuk, S. V., & Shornikova, L. P. (1998). Complete nutrition and infrared drying of plant materials. *Pishchevaya promyshlennost'* [Food industry], 5, 16-17.
- Koryachkina, S., & Baranov, V. (1986). *Ovoshchi v proizvodstve muchnyh izdelij* [Vegetables in the production of flour products]. Kemerovo Technological Institute of Food Industry.
- Perfilov, O. V., Vinnitskiy, V. F., & Skripnikov, Yu. G. (2008). The use of powders from fruit and vegetable pomace in order to expand the range of flour confectionery products. *Pishchevaya promyshlennost'* [Food industry], 48-50.
- Ashirova, N. N., Bychkova, E. S., & Vasyukova, A. N. (2012). *Realizatsiya koncepcii zdorovogo pitaniya naseleniya: sostoyanie i perspektivy* [Implementation of the concept of healthy nutrition of the population: state and prospects]. Publishing house of NSTU.
- Chipault, J. R. (1962). Antioxidants for use in foods. In W. O. Lundberg (Ed.), *Autooxidation and antioxidants*, Wiley.
- Collar, C., & Angioloni, A. (2014). Nutritional and functional performance of high β -glucan barley flours in breadmaking: Mixed breads versus wheat breads. *European Food Research and Technology*, 238(3), 459-469.
- Combs, F. G. Jr. (Ed). (2008). *The vitamins. Fundamental aspects in nutrition and health*. Elsevier Academic Press.
- Fitzgerald, C., Gallagher, E., Doran, L., Auty M., Prieto, J. M., Hayes, M. (2014). Increasing the

- health benefits of bread: Assessment of the physical and sensory qualities of bread formulated using a renin inhibitory *Palmaria palmata* protein hydrolysate. *Food Science and Technology*, 56 (2), 398-405. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.031>
- Granato D., Branco, G. F., Nazzaro, F., Cruz, A. G., & Faria, J. A. (2010). Functional foods and food development: Trends, concepts, and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(3), 292–302.
- Kadam, S., & Prabhasankar, P. (2010). Marine foods as functional ingredients in bakery and pasta products. *Food Research International*, 43, 1975-1980.
- Ktenioudaki, A., & Gallagher, E. (2012). Recent advances in the development of high-fiber baked products. *Trends Food Science Technology*, 28, 4-14.
- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., & Salunkhe, D. K. (1996). *Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives*. Marcel Dekker, Inc.
- Menezes, B. S., Coelho, M. S., Meza, S. L. R., & Salas-Mellado, M. (2015). Macroalgal biomass as an additional ingredient of bread. *International Food Research Journal*, 22(2), 812-817
- Milner, J. A. (2013). Functional foods and health promotion. *Journal of Nutrition*, 7(129), 1395–1397.
- Rahaie, S., Gharibzahedi, S., Razavai, H., & Jafari, S. M. (2012). Recent developments on new formulations based on nutrient-dense ingredients for the production of healthy-functional bread: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(11), 2896-2906.
- Rosell, C. M., Santos, E., & Collar, C. (2009). Physico-chemical properties of dietary fibers from different sources: A comparative approach. *Food Research International*, 42(1), 176-184.
- Rózyło, R., Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., & Jakubczyk, A. (2014). Wheat bread with pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) pulp as a functional food product. *Food Technology and Biotechnology*, 52(4), 430-438.
- Sagawa, T. I. H., & Kato, I. (2003). Fucoidan as functional food stuff. Structure and biological potency. *Japanese Journal of Phycology (Sorui)*, 51, 19-20.
- Sandhu, C. (2014). Infrared radiative drying in food engineering: A process analysis. *Biotechnology Progress*, 2, 109-119.
- Sharma, G. P., Verma, R. C., & Pathare, P. (2016). Mathematical modeling of infrared radiation thin layer drying of vegetables. *Journal of Food Engineering*, 282-286.
- Sienkiewicz, T., & Riedel, C.-L. (2010). Utilization of Whey. In Th. Mann (Ed.), *Whey and Whey Utilization*. Gelsenkirchen-Buer.
- Siess, H., & Stahl, W. (2017). Antioxidant functions of vitamins - vitamin E and vitamin C, *B*-carotene, and other carotenoids. *International Journal for Vitamin Nutrition Research*, 67, 364-367.
- Šoronja Simović, D., Filipović, N., Šereš, Z., Gyura, J., Jokić, A., & Pajin, B. (2010). Optimization of the formula of bread enrichment with sugar beet fibres. *Acta Aliment*, 39(4), 481-490.
- Wildman Robert, E. C. (2017). *Handbooks of nutraceuticals and functional foods*. GRS Press.

Выделение и характеристика штамма *Pantoea cyripedii* 4А, продуцирующего высокомолекулярный экзополисахарид

Сазонова Олеся Ивановна^{1,2}, Ветрова Анна Андрияновна^{1,2}, Гафаров Арслан Булатович², Шарова Мария Вадимовна^{1,3}, Соколов Сергей Львович^{1,2}

¹ ООО «Научно-производственная фирма ЭКОБИОТЕХ», Москва, Россия

² Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино Московская обл., Россия

³ Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия

Корреспонденция, касающаяся этой статьи, должна быть адресована Сазонова О.И., ООО «Научно-производственная фирма ЭКОБИОТЕХ» Россия, 127238, город Москва, шоссе Дмитровское, дом 85, офис 148, e-mail: sazonova_oi@rambler.ru

В условиях потребности отдельных отраслей промышленности в биополимерах с различными характеристиками поиск новых микроорганизмов, обладающих высоким потенциалом в отношении синтеза высокомолекулярных экзополисахаридов, имеет первостепенное значение. В работе исследован бактериальный штамм *Pantoea cyripedii* 4А, выделенный методом прямого посева на богатой агаризованной питательной среде, как потенциальный продуцент внеклеточных полисахаридов. Данный штамм был выделен из лесной подстилки, смешанной с верхним слоем почвы Приокско-Террасного заповедника им. М.А. Заблочно. Штамм *Pantoea cyripedii* 4А способен к синтезу ЭПС на среде с 5%-ой сахарозой, что было подтверждено реакцией Подобедова – Молиша (качественной реакцией на углеводы в среде). Гель-проникающая хроматография позволила установить, что изолированный микроорганизм на среде с 5%-ой сахарозой продуцирует экзополисахарид с молекулярной массой около 1,69 МДа. Однако, наличие двух более низкомолекулярных пиков, может свидетельствовать о том, что получаемый продукт по составу может быть неоднороден. Выход сухого биополимера при выращивании штамма на минеральной среде с сахарозой в конечной концентрации 5% без добавления дополнительных компонентов, как то микроэлементы, составлял 8,5 г/л. Одной из важных характеристик ЭПС является вязкость их водных растворов. Измеренная динамическая вязкость 10%-го раствора ЭПС, синтезируемого *Pantoea cyripedii* 4А, была 1,728 мПа·с. Несмотря на то, что продукция внеклеточных полисахаридов может стимулироваться в стрессовых условиях, ни при пониженном доступе кислорода, ни при пониженной температуре биосинтеза ЭПС исследуемым штаммом не наблюдается.

Ключевые слова: экзополисахариды, *Pantoea cyripedii*, гель-проникающая хроматография, динамическая вязкость, биотехнологии

Введение

Экзополисахариды (ЭПС) – это большой класс природных высокомолекулярных углеводных биополимеров с уникальными физическими, химическими, механическими и биологическими свойствами. Они являются экологически чистым продуктом благодаря своей биоразлагаемости, биосовместимости и нетоксичности. Кроме того, при их естественном распаде также не образуется загрязняющих агентов, что приводит к снижению техногенной нагрузки на окружающую среду. Они способны растворяться в воде, создавая растворы с высокой вязкостью, обладают такими свойствами

как студнеобразование, загущение, влагоудержание, стабилизация, эмульгирование и др. (Елинов, 1984). ЭПС возобновляемы и могут быть переработаны в волокна, гидрогели, пленки и каркасы, которые имеют решающее значение при разработке функциональных биоматериалов (Castellane, M.Lemos, & E.Lemos, 2018). Именно все эти вышеперечисленные свойства способствовали широкому применению данных биополимеров в пищевой и нефтяной промышленности, фармацевтике и медицине (Guezennec, 2016; Leroy & De Vuyst, 2016; Leung, Liu, Koon, & Fung, 2006; Matsumoto & Kuroyanaqi, 2010; Silva, Lopes Neto, & Cardarelli, 2019).

Как цитировать

Сазонова, О. И., Ветрова, А. А., Гафаров, А. Б., Шарова, М. В., & Соколов, С. Л. (2020). Выделение и характеристика штамма *Pantoea cyripedii* 4А, продуцирующего высокомолекулярный экзополисахарид. *Health, Food & Biotechnology*, 2(4). <https://doi.org/10.36107/hfb.2020.i4.s90>

Внеклеточные полисахариды, продуцируемые бактериями, по сравнению с растительными и животными ЭПС, являются наиболее перспективными для промышленных нужд, поскольку свойства образуемых ЭПС можно регулировать изменением условий культивирования штаммов-продуцентов, а также выращиванием их на дешевых субстратах, таких как отходы производств (Barcelos, Vespermann, Pelissari, & Molina, 2020; Sutherland, 2005; Середа и др., 2019). Бактериальные ЭПС представляют собой огромное разнообразие химических структур и имеют как гомополимерный, так и гетерополимерный состав. Биосинтез ЭПС связан с первичным углеводным обменом продуцирующих их клеток (De Vuyst & Degeest, 1999). Продукция данных соединений характерна для множества микроорганизмов из различных экологических ниш, включая условно-патогенные и патогенные для человека штаммы (Banerjee, Rudra, Mazumder, Nigam, & Bandopadhyay, 2018; Benit & Roslin, 2018; Ostapska, Howell, & Sheppard, 2018). Количество внеклеточных полисахаридов, производимых многими микроорганизмами, слишком мало для их практического использования. Известно лишь несколько видов бактерий, обладающих способностью синтезировать ЭПС в количествах достаточных для биотехнологического производства. Среди них штаммы *Xanthomonas campestris*, *Bacillus polymyxa*, *Klebsiella pneumoniae* и *Sfingomonas elodea* являются наиболее изученными. Это подтолкнуло ученых в последние годы к открытию новых микроорганизмов-продуцентов ЭПС, тестированию состава, структуры и характеристик новых ЭПС (Andhare, Chauhan, Dave, & Pathak, 2014; Roca, Alves, Freitas, & Reis, 2015; Trabelsi, Slima, Chaabane, & Riadh, 2015; Мелентьев, 2017), что также способствовало созданию баз данных известных экзополисахаридов (Birch, Van Calsteren, Pérez, & Svensson, 2019). Поскольку для каждой отрасли требуются биополимеры с различными характеристиками, то поиск новых бактерий, обладающих высоким потенциалом в отношении синтеза высокомолекулярных биополимеров, имеет первостепенное значение для промышленности.

Целью данной работы являлся поиск, выделение и характеристика бактериального штамма, способного к продукции высокомолекулярных экзополисахаридов.

Материалы и методы

В работе использовали бактериальный штамм *Pantoea cypripedii* 4A, полученный методом прямого посева на среду R2A («Panreac», Испания) как

потенциальный продуцент экзополисахаридов. Микроорганизм был выделен из лесной подстилки, смешанной с верхним слоем почвы глубиной 3-5 см. Образцы подстилки были отобраны методом конверта в Приокско-Террасном заповеднике имени М.А. Заблоцкого (54.911542, 37.572082) в июле 2019г., температура окружающей среды на момент отбора проб составляла 23°C, относительная влажность воздуха – 72%.

Способность штамма продуцировать экзополисахариды проверяли в жидкой питательной среде следующего состава: пептон – 0,2%, K_2HPO_4 – 0,2%, NaCl – 0,2%, $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,04%, $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0,001%, сахароза – 5%. Культивирование вели в течение 24 часов на качалке при 28°C. Экзополисахариды из культуральной жидкости осаждали тремя объемами изопропанола; полученный осадок промывали 96%-ным этанолом и высушивали до постоянной массы. С полученным препаратом проводили качественную реакцию на углеводы с α -нафтолом (реакция Подобедова – Молиша). Для этого навеску препарата (10-20 мг) растворяли в 0,5 – 1 мл деионизованной воды. К полученному раствору добавляли 1-2 капли 0,1%-ного спиртового раствора α -нафтола после чего по стенке пробирки осторожно приливали 0,5 – 2 мл концентрированной серной кислоты. Появление фиолетового кольца на границе раздела фаз свидетельствовало о наличии углевода в растворе. В качестве положительного контроля использовали 1%-ый раствор глюкозы, отрицательным контролем служила деионизованная вода (фиолетовое кольцо не образовывалось).

Измерение динамической вязкости проводили с использованием экспресс-анализатора консистенции ЭАК-2М (Украина) по протоколу фирмы-изготовителя.

Для анализа способности штамма *Pantoea cypripedii* 4A синтезировать ЭПС в микроаэрофильных условиях в стерильную колбу объемом 50 мл вносили 45 мл стерильной питательной среды и инокулят ночной культуры (в соотношении 1 объем инокулята к 100 объемам среды). Инкубацию вели при 28°C в течение 7 суток без использования качалки. Эксперимент проводили в трех повторях.

Для выделения геномной ДНК штамм выращивали на среде 1/10 TSB (Tryptic Soy Broth) фирмы «Sigma-Aldrich» (США) при 28°C на качалке при 180 об/мин в течение 14-16 часов. Геномную ДНК микроорганизмов выделяли с использованием GeneJET Genomic DNA Purification Kit («Thermo Scientific», США) по протоколу фирмы-изготовителя.

Видовую идентификацию выделенного микроорганизма-продуцента ЭПС осуществляли на основании определения нуклеотидной последовательности фрагмента гена 16S рРНК, а также, с использованием системы MALDI Biotyper (матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация) по протоколу фирмы-изготовителя («Bruker Daltonics», Германия). Идентификация микроорганизмов с помощью MALDI Biotyper основана на сравнении масс-спектров рибосомальных белков исследуемого штамма с базой спектров референсных микроорганизмов известных видов. Пробы для анализа готовили согласно (De Bruyne et al., 2011).

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) осуществляли в амплификаторе GeneAmp PCR System 9700 («Applied Biosystems», США). Реакцию проводили в стандартных условиях, при конечной концентрации дезоксирибонуклеозидтрифосфатов 200 мкМ и 1,5 мМ $MgCl_2$ и 1.5-2.5 единицы DreamTaq полимеразы фирмы «Thermo Scientific», Литва. Для амплификации фрагмента гена 16S рРНК использовали олигонуклеотидные праймеры 8f (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3') и 1492r (5'-TAC GGH TAC CTT GTT ACG ACT T-3') (Weisburg, Barnes, Pelletier, & Lane, 1991). Размер амплифицированного фрагмента составлял около 1484 п.н. Программа амплификации состояла из начальной денатурации (94°C 5 мин), и 30 циклов (94°C 30 сек, 55°C 30 сек, 72°C 1 мин) с финальной достройкой в течение 7 мин при 72°C.

Электрофорез ДНК проводили в 0,8% агарозном геле в 0,5× трис-боратном буфере по стандартной методике (Sambrook, Fritsch, & Maniatis, 1989). Визуализацию ДНК проводили путем окрашивания геля в растворе бромистого этидия (конечная

концентрация 0,0005%) при покачивании в течение 5 минут.

Нуклеотидную последовательность ДНК определяли с помощью генетического анализатора ABI 3130 xl Analysis System («Applied Biosystem», США) по протоколу фирмы производителя. Анализ идентичности нуклеотидных последовательностей осуществляли при помощи программы BLASTN (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Молекулярно-массовое распределение и среднюю молекулярную массу экзополисахаридов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) при помощи системы Agilent 1100 («Agilent Technologies», США) с рефрактометрическим детектором по протоколу фирмы-изготовителя. В работе использовали колонку BioSil TSK 50xl (7,5 × 300 мм) фирмы Bio-Rad (США); элюент – 0,05М буфер Tris/HCl со скоростью потока 0,5 мл/мин. Калибровка хроматографической колонки осуществлялась по декстранам («Serva», Германия, «Pharmacia Fine Chemicals», Швеция) с молекулярными массами 4000, 500, 110, 40 и 20 кДа, декстринам с массами 1620, 1400, 900 Да («Sigma», США), глюкозе и этанолу с молекулярными массами 180 и 46 Да, соответственно. Результаты калибровки представлены на Рисунке 1 и в Таблице 1.

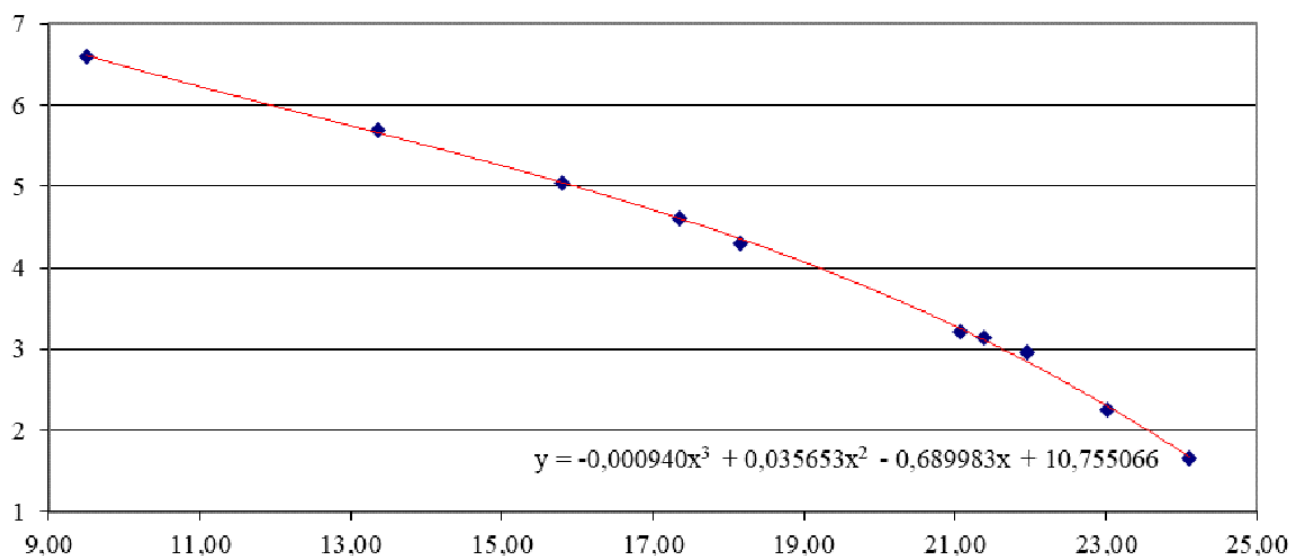
Пробоподготовку образца ЭПС для анализа проводили следующим образом: навеску ЭПС растворяли в течение 2 часов в буфере Трис-НCl (0.05М, pH 6,9) с добавлением 0.2М хлорида натрия. В результате конечная концентрация навески оказалась 1 мг/мл. Чтобы избавиться от вероятного осадка, образец перед анализом в течение 5 минут был подвергнут центрифугированию при 13300 об/мин на настольной центрифуге PICO17 («Thermo Scientific», США).

Таблица 1
Времена Удерживания Максимумы Пика Калибровочных Полимеров

Калибровочный полимер	Молекулярная масса, Да	Время удерживания, мин	Логарифм молекулярной массы
Декстран 4000	4000000	9,50	6,60206
Декстран T500	500000	13,35	5,69897
Декстран T110	110000	15,80	5,041393
Декстран T40	40000	17,35	4,60206
Декстран T20	20000	18,16	4,30103
Декстрин 10	1620	21,07	3,209515
Декстрин 15	1400	21,38	3,146128
Декстрин 20	900	21,95	2,954243
Глюкоза	180	23,02	2,255273
Этанол	46	24,10	1,662758

Рисунок 1

Калибровочный график зависимости времени удерживания от логарифма молекулярной массы полисахарида для хроматографической колонки Bio-Rad TSK50xl (7,5 * 300мм)



Уравнение калибровочной кривой имело вид:

$$Y = -0,000940x^3 + 0,035653x^2 - 0,689983x + 10,755066,$$

где x – время удерживания (RT).

Результаты и их обсуждение

Объектом нашего исследования был бактериальный штамм 4A, выделенный из лесной подстилки, смешанной с верхним слоем почвы методом прямого высева на среду R2A. Данный микроорганизм на среде R2A образовывал слизистые колонии, что являлось косвенным свидетельством возможности продуцировать внеклеточные полисахариды.

Видовую принадлежность исследуемого штамма определяли, используя масс-спектрометрическую систему MALDI Biotyper, а также путем секвенирования фрагмента гена 16S рРНК. Данные методы позволили отнести выделенный микроорганизм к виду *Pantoea cypripedii*. Нуклеотидная последовательность гена 16S рДНК штамма *Pantoea cypripedii* 4A депонирована в базе данных GenBank под номером MW585400. На Рисунке 2 представлена диаграмма эволюционных взаимоотношений штамма *Pantoea cypripedii* 4A с другими представителями рода *Pantoea* на основе нуклеотидных последовательностей их генов 16S рДНК.

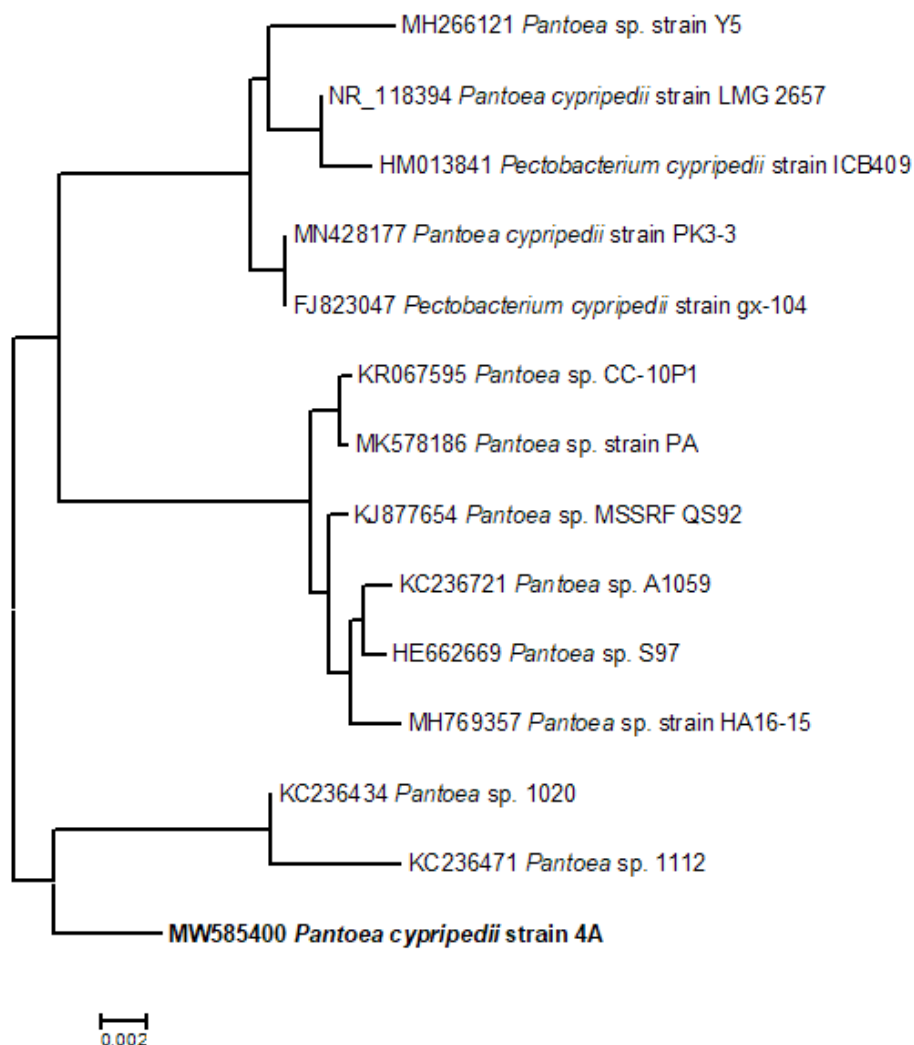
Pantoea spp. широко распространены в природе, они были выделены из почв, различных водо-

емов, растений (как эпифитная, так и эндофитная микрофлора) и других источников (Amellal, Burtin, Bartoli, & Heulin, 1998; Silvi, Barghini, Aquilanti, Juarez-Jimenez, & Fenice, 2013; Niknezhad, Morowvat, Najafpour, Iraj, & Ghasemi, 2018; Sun et al., 2020). В последние годы бактерии *Pantoea* вызывают все больший интерес исследователей благодаря своей способности продуцировать высокомолекулярные ЭПС (Silvi et al., 2013; Niknezhad et al., 2018).

Для изучения способности изолированного в ходе данной работы *Pantoea cypripedii* 4A продуцировать экзополисахариды, штамм выращивали в течение 24 часов в жидкой питательной среде (см. раздел «Материалы и методы») с сахарозой в качестве единственного источника углерода и энергии. Образование внеклеточных полисахаридов при выращивании на данной среде было подтверждено реакцией Подобедова-Молиша (общая качественная реакция на углеводы). Выход сухого продукта при выращивании микроорганизма в питательной среде с 5%-ной сахарозой составлял 8,5 г/л, что являлось экономически более выгодным по сравнению с продукцией ЭПС штаммом *Pantoea* sp. BM39, выделенного из седиментов Средиземного моря. Данный штамм характеризуется высоким уровнем синтеза ЭПС, порядка 12 г/л на среде с 10%-ной сахарозой (Silvi et al., 2013). Кроме более высокого уровня углевода в среде, *Pantoea* sp. BM39 требуется и более многокомпонентная среда для культивирования.

Рисунок 2

Диаграмма эволюционных взаимоотношений штамма *Pantoea cypripedii* 4A с другими представителями рода *Pantoea* на основе нуклеотидных последовательностей их генов 16S рДНК. Приведены номера последовательностей в GenBank, полужирным шрифтом выделен штамм *Pantoea cypripedii* 4A. Диаграмма построена с использованием алгоритма Neighbor Join и множественного выравнивания методом MUSCLE в программном пакете UGene v.37 (Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., & UGENE team, 2012)



Гель-проникающая хроматография высокого разрешения позволила установить молекулярно-массовое распределение и среднюю молекулярную массу полученного препарата внеклеточного полисахарида. Образец ЭПС имел высокомолекулярный пик

(около 1,69 млн Дальтон) на уровне 23% от общей площади пиков, а также пик с максимумом в районе 1750 Да – около 55% площади. Хроматографический профиль образца представлен на Рисунке 3, результат обработки хроматограммы в Таблице 2.

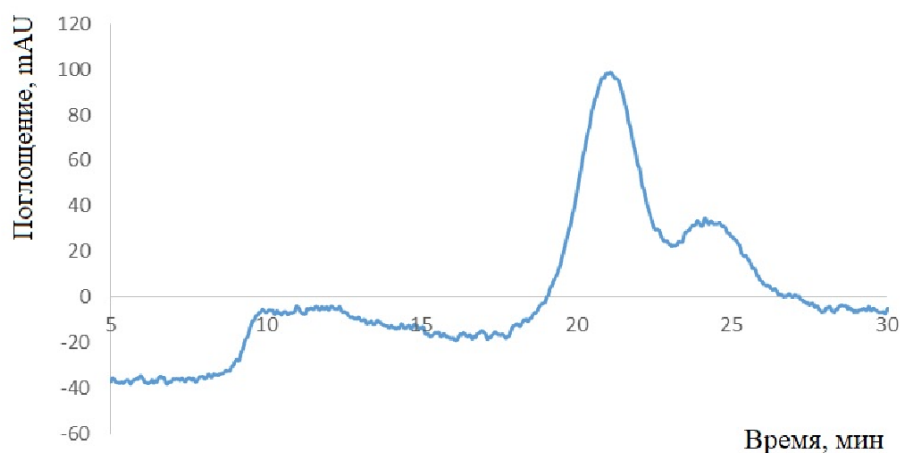
Таблица 2

Результаты Обработки Хроматограммы Образца Экзополисахарида, Синтезируемого *Pantoea cypripedii* 4A

Образец	Пик	Время удерживания, мин	% площади	Молекулярная масса, Да
<i>Pantoea cypripedii</i> 4A	1	11,00	23	1690602
	2	21,09	55	1749
	3	24,14	22	44

Рисунок 3

Хроматограмма молекулярно-массового распределения в образце биополимера, синтезируемого штаммом *Pantoea cypripedii* 4A



Одним из основных показателей в описании свойств ЭПС является вязкость их растворов. Данная характеристика зависит от штамма, синтезирующего биополимер, химического состава, структуры молекулы ЭПС и таких факторов, как количество вещества, температура культивирования, pH среды, возможность аэрации и т.д. (Гвоздяк, 1989). Измеренная динамическая вязкость 10%-ного водного раствора экзополисахарида продуцируемого исследуемым микроорганизмом при температуре 30°C составляла 1.728 мПа×с, в то время как динамическая вязкость 5%-ного и 1%-ного водных растворов при тех же условиях составляла 0.831 и 0.559 мПа×с, соответственно.

Известно, что экзополисахариды выполняют защитные функции для бактериальных штаммов-продуцентов в отношении неблагоприятных факторов окружающей среды (повышение и снижение значений pH, температуры, степень аэрации и т.д.) (Пирог, 1997). Поскольку микроорганизмы рода *Pantoea* являются факультативными анаэробами, то интерес представляло установить следующее: как влияют микроаэрофильные условия культивирования на биосинтез внеклеточных полисахаридов используемым в работе штаммом. Проведенный эксперимент показал, что в условиях низкого доступа кислорода биосинтез ЭПС штаммом *Pantoea cypripedii* 4A не наблюдается.

Установлено, что психрофильные штаммы родов *Colwellia* sp., *Pseudomonas* sp. и *Phormidesmis* sp. синтезируют биополимеры при низких температурах окружающей среды, которые проявляют криопротекторные свойства не только в отноше-

нии самих бактерий-продуцентов, но и для других микроорганизмов (Marx, Carpenter, & Deming, 2009; Carrion, Delgado, & Mercade, 2015; Christmas, Barker, & Anesio, 2016). Исходя из вышесказанного, исследуемый в работе штамм *Pantoea cypripedii* 4A был проверен на способность к синтезу внеклеточных полисахаридов при низких значениях температуры окружающей среды (+6°C) как в аэробных, так и в микроаэрофильных условиях. Однако в обоих случаях синтеза ЭПС штаммом *Pantoea cypripedii* 4A при низкой температуре не наблюдалось.

Заключение

Таким образом, в ходе работы из лесной подстилки, смешанной с верхним слоем почвы, был выделен штамм *Pantoea cypripedii* 4A, продуцирующий экзополисахарид с молекулярной массой 1,69 МДа на культуральной среде с 5%-ой сахарозой в качестве основного источника углерода. Наличие двух низкомолекулярных пиков на хроматограмме молекулярно-массового распределения свидетельствует о том, что получаемый продукт по составу является неоднородным. Выход сухого продукта биополимера при данных условиях культивирования составлял 8,5 г/л. Динамическая вязкость 10%-го раствора данного продукта была 1,728 мПа×с, что в два раза больше вязкости 5%-ного раствора этого биополимера и в три раза больше соответствующего показателя 1%-ного раствора. Полученные в ходе работы данные позволяют рассматривать ЭПС, продуцируемый *Pantoea cypripedii* 4A, как потенциальный продукт для применения в различных отраслях промышленности.

Литература

- Гвоздяк, Р. И. (1989). *Микробный полисахарид ксантан*. Научная думка.
- Елинов, Н. П. (1984) *Химия микробных полисахаридов*. Высшая школа.
- Мелентьев, А. И. (2017). Уникальный природный штамм *Raenibacillus ehimensis* IB-739. В *Нарочанские чтения - 11*, (с. 58-63). Белорусский государственный университет, Северо-Кавказский федеральный университет.
- Пирог, Т. П., Гринберг, Т. А., & Малащенко, Ю. Р. (1997). Защитные функции экзополисахаридов, синтезируемых бактериями *Acinetobacter* sp. *Микробиология*, 66(3), 335 – 340.
- Середа, А. С., Костылева, Е. В., Великорецкая, И. А., Цурикова, Н. В., Хабибулина, Н. В., Бикбов, Т. М., Бубнова, Т. В. & Немашкалов, В. А. (2019). Использование препарата на основе низкомолекулярных веществ сои для повышения активности ксиланазы и эндоглюканызы мутантного штамма *Trichoderma reesei* Co-44. *Биотехнология*, 35(5), 70 – 79. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2019-35-5-70-79>
- Andhare, P., Chauhan, K., Dave, M., & Pathak, H. (2014). Microbial exopolysaccharides: advances in applications and future prospects. *Biotechnology*, 3, 1–25. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3518.4484>
- Amellal, N., Burtin, G., Bartoli, F., & Heulin, T. (1998). Colonization of wheat roots by an exopolysaccharide-producing *Pantoea agglomerans* strain and its effect on rhizosphere soil aggregation *Applied Environmental Microbiology*, 64, 3740–3747.
- Banerjee, A., Rudra, S. G., Mazumder, K., Nigam, V., & Bandopadhyay, R. (2018). Structural and functional properties of exopolysaccharide excreted by a novel *Bacillus anthracis* (Strain PFAB2) of hot spring. *Original Indian Journal of Microbiology*, 58(1), 39–50. <https://doi.org/10.1007/s12088-017-0699-4>
- Barcelos, M. C. S., Vespermann, K. A. C., Pelissari F. M., & Molina G. (2020). Current status of biotechnological production and applications of microbial exopolysaccharides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(9), 1475-1495, <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1575791>
- Benit, N., & Roslin, A. S. (2018). Isolation and characterization of larvicidal extracellular polysaccharide (EPS) from *Pseudomonas aeruginosa* B01. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(1), 109-120, <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.701.013>
- Birch, J., Van Calsteren, M.-R., Pérez, S. & Svensson, B. (2019). The exopolysaccharide properties and structures database: EPS-DB. Application to bacterial exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 205, 565–570. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.063>
- De Bruyne, K., Slabbinck, B., Waegeman, W., Vauterin, P., De Baets, B., & Vandamme, P. (2011). Bacterial species identification from MALDI-TOF mass spectra through data analysis and machine learning. *Systematic and Applied Microbiology*, 34, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2010.11.003>
- Carrion, O., Delgado, L., & Mercade, E. (2015). New emulsifying and cryoprotective exopolysaccharide from Antarctic *Pseudomonas* sp. ID1. *Carbohydrate polymers*, 117, 1028 – 1034. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.08.060>
- Castellane, T. C., Lemos, M., & Lemos, E. (2018). Exploring and utilization of some bacterial exopolysaccharides. *Biopolymers Research*, 2(1), 1000106
- Chrismas, N., Barker, A. G., & Anesio, A.M. (2016). Genomic mechanisms for cold tolerance and production of exopolysaccharides in the Arctic cyanobacterium *Phormidesmis priestleyi* BC1401. *BMC Genomics*, 17(1), 533. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2846-4>
- Guezennec, J. (2016). Bacterial exopolysaccharides from unusual environments and their applications. In H.C. Flemming, T.R. Neu, J. Wingender (Eds.), *The Perfect Slime: Microbial Extracellular Polymeric Substances (EPS)* (p.135). Springer.
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2016). Advances in production and simplified methods for recovery and quantification of exopolysaccharides for applications in food and health. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 3229 – 3238. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9936>
- Leung, M. Y., Liu, C., Koon, J. C., & Fung, K. P. (2006). Polysaccharide biological response modifiers. *Immunology Letter*, 105(2), 101-114. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2006.01.009>
- Marx, J. G., Carpenter, S. D., & Deming, J. W. (2009). Production of cryoprotectant extracellular polysaccharide substances (EPS) by the marine psychrophilic bacterium *Colwellia psychrerythraea* strain 34H under extreme conditions. *Canadian Journal of Microbiology*, 55(1), 63 –72. <https://doi.org/10.1139/W08-130>
- Matsumoto, Y., & Kuroyanaqi, Y. (2010). Development of a wound dressing composed of hyaluronic acid sponge containing arginine and epidermal growth factor. *Journal of Biomaterials Science Polymer*, 21, 715–726. <https://doi.org/10.1163/092050611X555687>
- Niknezhad, S. V., Morowvat, M. H., Najafpour D., G., Iraj, A., & Ghasemi, Y. (2018). Exopolysaccharide from *Pantoea* sp. BCCS 001 GH isolated from nectarine fruit: production in submerged culture and preliminary physicochemical characterizations. *Food Science and Biotechnology*, 27, 1735–1746. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0409-y>

- Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., & UGENE team (2012). Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* (Oxford, England), 28(8), 1166–1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
- Ostapska, H., Howell, P. L., & Sheppard, D. C. (2018). Deacetylated microbial biofilm exopolysaccharides: It pays to be positive. *PLOS Pathogens*, 14(12), e1007411. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007411>
- Roca, C., Alves, V.D., Freitas, F., & Reis, M.A. (2015). Exopolysaccharides enriched in rare sugars: bacterial sources, production, and applications. *Frontiers in microbiology*, 6, 288 – 291. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00288>
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., & Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd ed. N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Silva, L. A., Lopes Neto, J. H. P. & Cardarelli, H. R. (2019). Exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum*: technological properties, biological activity, and potential application in the food industry. *Annual Microbiology*, 69, 321–328 <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01456-9>
- Silvi, S., Barghini, P., Aquilanti, A., Juarez-Jimenez, B., & Fenice, M. (2013). Physiologic and metabolic characterization of a new marine isolate (BM39) of *Pantoea* sp. producing high levels of exopolysaccharide. *Microbial Cell Factories*, 12(1), 10. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-12-10>
- Sun, L., Lei, P., Wang, Q., Ma, J., Zhan, Y., Jiang, K., Xu, Z. & Xu, H. (2020). The endophyte *Pantoea alhagi* NX-11 alleviates salt stress damage to rice seedlings by secreting exopolysaccharides. *Frontiers in Microbiology*, 10, 3112. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03112>
- Sutherland, I.W. (2005). Microbial exopolysaccharides. In *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility*, (pp. 431–457). Marcel Dekker, Inc.
- Trabelsi, I., Slima, S. B., Chaabane, H., & Riadh, B. S. (2015). Purification and characterization of a novel exopolysaccharides produced by *Lactobacillus* sp. Ca6. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 541–546. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.12.045>
- De Vuyst, L., & Degeest, B. (1999). Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 23, 153–177. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(98\)00042-4](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(98)00042-4)
- Weisburg, W. G., Barnes, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 73, 697–703.

Isolation and Characterization of the *Pantoea cypripedii* 4A Strain Producing High Molecular Weight Exopolysaccharide

Olesya I. Sazonova^{1,2}, Anna A. Vetrova^{1,2}, Arslan B. Gafarov²,
Maria V. Sharova^{1,3}, Sergey L. Sokolov^{1,2}

¹ LLC "Scientific and Production Company ECOBIOTECH"

² G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms RAS, FRC PSCBI RAS

³ Moscow State University of Food Production

Correspondence concerning this article should be addressed to O.I. Sazonova, Scientific and Production Company ECOBIOTECH LLC, 127238, Moscow, Dmitrovskoe chaussees, 85, office 148, e-mail: sazonova_oi@rambler.ru

Searching for new microorganisms with great potential for the synthesis of high-molecular exopolysaccharides possessing some useful traits is very important in the scope of certain industries. The bacterial strain *Pantoea cypripedii* 4A isolated by direct plating on a rich agar medium was studied in this work as a potential producer of extracellular polysaccharides. This strain was isolated from forest litter mixed with the topsoil of the M.A. Zablotsky Prioksko-Terrasny Reserve. The *Pantoea cypripedii* 4A strain is capable of synthesizing EPS that was confirmed by the Podobedov-Molish reaction (a qualitative reaction to carbohydrates in the medium) on a medium supplemented with 5% sucrose. Gel permeation chromatography confirmed that the isolated strain produces an exopolysaccharide with a molecular weight of about 1.69 MDa on a medium supplemented with 5% sucrose. However, the presence of two lower molecular weight peaks may indicate that the resulting product has heterogeneous structure. The yield of dry biopolymer when growing the strain on a mineral medium with sucrose at a final concentration of 5% without adding additional components, such as microelements, was 8.5 g/l. One of the important characteristics of EPS is the viscosity of their aqueous solutions. The measured dynamic viscosity of a 10% EPS solution synthesized by *Pantoea cypripedii* 4A was 1.728 mPa s. Despite the fact that the production of extracellular polysaccharides is often enhanced under stress conditions, neither reduced oxygen concentration, nor low temperature conditions did affect the EPS biosynthesis by the studied strain.

Key words: exopolysaccharides, *Pantoea cypripedii*, gel permeation chromatography, dynamic viscosity, biotechnologies

References

- Gvozdyak, R. I. (1989). *Mikrobnij polisaharid ksantan* [Microbial polysaccharide xanthan]. Naukova dumka.
- Elinov, N. P. (Ed.) (1984). *Himiya mikrobnih polisaharidov* [Chemistry of microbial polysaccharides]. Vysshaya shkola.
- Melent'ev A. I. (2017). The unique environmental strain *Paenibacillus ehimensis* IB-739. In *Narochanskies chteniya – 11* [Naroch readings – 11], (pp. 58-63). Belorussian State University, North-Caucasian Federal University.
- Pirog, T. P., Grinberg, T. A., & Malashenko, Yu. R. (1997). Protective functions of exopolysaccharides synthesized by *Acinetobacter* sp. *Mikrobiologiya* [Microbiology], 66(3), 335 - 340.
- Sereda, A. S., Kostyleva, E. V., Velikoretskaya, I. A., Tsurikova, N. V., Khabibulina, N. V., Bikbov, T. M., Bubnova, T. V. & Nemashkalov, V. A. (2019). Use of a preparation based on low molecular weight soybean substances to increase the activity of xylanase and endoglucanase of the mutant *Trichoderma reesei* Co-44 strain. *Biotechnologiya* [Biotechnology], 35(5), 70 - 79. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2019-35-5-70-79>
- Andhare, P., Chauhan, K., Dave, M., & Pathak, H. (2014). Microbial exopolysaccharides: advances in applications and future prospects. *Biotechnology*, 3, 1-25. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3518.4484>
- Amellal, N., Burtin, G., Bartoli, F., & Heulin, T. (1998). Colonization of wheat roots by an exopolysaccharide-producing *Pantoea agglomerans* strain and its effect on rhizosphere soil aggregation

- Applied Environmental of Microbiology*, 64, 3740–3747.
- Banerjee, A., Rudra, S. G., Mazumder, K., Nigam, V., & Bandopadhyay, R. (2018). Structural and functional properties of exopolysaccharide excreted by a novel *Bacillus anthracis* (Strain PFAB2) of hot spring. *Original Indian Journal of Microbiology*, 58(1), 39–50. <https://doi.org/10.1007/s12088-017-0699-4>
- Barcelos, M. C. S., Vespermann, K. A. C., Pelissari F. M., & Molina G. (2020). Current status of biotechnological production and applications of microbial exopolysaccharides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(9), 1475–1495, <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1575791>
- Benit, N., & Roslin, A. S. (2018). Isolation and characterization of larvicidal extracellular polysaccharide (EPS) from *Pseudomonas aeruginosa* B01. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(1), 109–120, <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.701.013>
- Birch, J., Van Calsteren, M.-R., Pérez, S. & Svensson, B. (2019). The exopolysaccharide properties and structures database: EPS-DB. Application to bacterial exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 205, 565–570. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.063>
- De Bruyne, K., Slabbinck, B., Waegeman, W., Vauterin, P., De Baets, B., & Vandamme, P. (2011). Bacterial species identification from MALDI-TOF mass spectra through data analysis and machine learning. *Systematic and Applied Microbiology*, 34, 20 – 29. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2010.11.003>
- Carrion, O., Delgado, L., & Mercade, E. (2015). New emulsifying and cryoprotective exopolysaccharide from Antarctic *Pseudomonas* sp. ID1. *Carbohydrate polymers*, 117, 1028 – 1034. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.08.060>
- Castellane, T. C., Lemos, M., & Lemos, E. (2018). Exploring and utilization of some bacterial exopolysaccharides. *Biopolymers Research*, 2(1), 1000106
- Christmas, N., Barker, A. G., & Anesio, A.M. (2016). Genomic mechanisms for cold tolerance and production of exopolysaccharides in the Arctic cyanobacterium *Phormidesmis priestleyi* BC1401. *BMC Genomics*, 17(1), 533. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2846-4>
- Guezennec, J. (2016). Bacterial exopolysaccharides from unusual environments and their applications. In H.C. Flemming, T.R. Neu, J. Wingender (Eds.), *The Perfect Slime: Microbial Extracellular Polymeric Substances (EPS)* (p.135). Springer.
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2016). Advances in production and simplified methods for recovery and quantification of exopolysaccharides for applications in food and health. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 3229 – 3238. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9936>
- Leung, M. Y., Liu, C., Koon, J. C., & Fung, K. P. (2006). Polysaccharide biological response modifiers. *Immunology Letter*, 105(2), 101–114. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2006.01.009>
- Marx, J. G., Carpenter, S. D., & Deming, J. W. (2009). Production of cryoprotectant extracellular polysaccharide substances (EPS) by the marine psychrophilic bacterium *Colwellia psychrerythraea* strain 34H under extreme conditions. *Canadian Journal of Microbiology*, 55(1), 63 –72. <https://doi.org/10.1139/W08-130>
- Matsumoto, Y., & Kuroyanaqi, Y. (2010). Development of a wound dressing composed of hyaluronic acid sponge containing arginine and epidermal growth factor. *Journal of Biomaterials Science Polymer*, 21, 715–726. <https://doi.org/10.1163/092050611X555687>
- Niknezhad, S. V., Morowvat, M. H., Najafpour D., G., Iraj, A., & Ghasemi, Y. (2018). Exopolysaccharide from *Pantoea* sp. BCCS 001 GH isolated from nectarine fruit: production in submerged culture and preliminary physicochemical characterizations. *Food Science and Biotechnology*, 27, 1735–1746. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0409-y>
- Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., & UGENE team (2012). Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* (Oxford, England), 28(8), 1166–1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
- Ostapska, H., Howell, P. L., & Sheppard, D. C. (2018) Deacetylated microbial biofilm exopolysaccharides: It pays to be positive. *PLOS Pathogens*, 14(12), e1007411. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007411>
- Roca, C., Alves, V.D., Freitas, F., & Reis, M.A. (2015). Exopolysaccharides enriched in rare sugars: bacterial sources, production, and applications. *Frontiers in microbiology*, 6, 288 – 291. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00288>
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., & Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd ed. N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Silva, L. A., Lopes Neto, J. H. P. & Cardarelli, H. R. (2019). Exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum*: technological properties, biological activity, and potential application in the food industry. *Annual Microbiology*, 69, 321–328 <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01456-9>
- Silvi, S., Barghini, P., Aquilanti, A., Juarez-Jimenez, B., & Fenice, M. (2013). Physiologic and metabolic characterization of a new marine isolate (BM39) of *Pantoea* sp. producing high levels of exopolysaccharide. *Microbial Cell Factories*, 12(1), 10. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-12-10>

- Sun, L., Lei, P., Wang, Q., Ma, J., Zhan, Y., Jiang, K., Xu, Z. & Xu, H. (2020). The endophyte *Pantoea alhagi* NX-11 alleviates salt stress damage to rice seedlings by secreting exopolysaccharides. *Frontiers in Microbiology*, 10, 3112. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03112>
- Sutherland, I.W. (2005). Microbial exopolysaccharides. In *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility*, (pp. 431-457). Marcel Dekker, Inc.
- Trabelsi, I., Slima, S. B., Chaabane, H., & Riadh, B. S. (2015). Purification and characterization of a novel exopolysaccharides produced by *Lactobacillus* sp. Ca6. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 541–546. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.12.045>
- De Vuyst, L., & Degeest, B. (1999). Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 23, 153–177. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(98\)00042-4](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(98)00042-4)
- Weisburg, W. G., Barnes, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 73, 697–703.

Питательные свойства хлеба с добавлением пивной дробины

Житков Владимир Владимирович¹, Федоренко Борис
Николаевич¹, Быков Александр Валерьевич¹

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Корреспонденция, касающаяся этой статьи, должна быть адресована Житкову В.В., ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», адрес: 125080, город Москва, Волоколамское шоссе, дом 11. E-mail: vladimir.v.zhitkov@gmail.com

Отработанное пивоваренное зерно так же называемое дробинкой, является дешевым побочным продуктом пивоварения, и в то же время ценным источником пищевых волокон, белка и незаменимых аминокислот, минералов, полифенолов, витаминов и липидов. С учетом ценных нитриональных свойств дробины рациональным подходом является включение ее в состав хлеба и оценка ее вклада в питательный состав, профиль летучих веществ, а также влияние на сенсорные свойства обогащенного хлеба. Замена хлебопекарной муки 5%, 10%, 15% и 20% муки из дробины привела к получению рецептур хлеба с повышенной питательной ценностью (повышенное содержание клетчатки, белка, жира и минералов) и вкусовыми качествами, которые придают характерные летучие соединения. Сенсорный анализ показал, что, по сравнению с хлебом из 100% муки, рецептуры хлеба с добавлением до 10% дробины обладают хорошими органолептическими характеристиками, что указывает на возможность использования этого побочного продукта в качестве обогащающего ингредиента в хлебобулочные изделия.

Ключевые слова: пивоваренное зерно, дробина, BGS, хлеб, летучие соединения, пищевая ценность, функциональный ингредиент.

Введение

В настоящее время проявляется растущий интерес потребителей к функциональной пище, то есть продуктам, содержащим ингредиенты, которые обеспечивают дополнительную пользу для здоровья, помимо основных потребностей в питании. Функциональные пищевые продукты - это продукты, содержащие биологически активные соединения, которые положительно влияют на ключевые функции человеческого организма, имеют отношение к здоровью человека или могут снизить риск хронических заболеваний.

В прежние годы, из-за предпочтений потребителей к белому хлебу, из-за процессов измельчения и просеивания удалялось 70-80% исходного содержания питательных веществ из пшеницы. В частности, исключение клетчатки из рациона привело к увеличению случаев сердечно-сосудистых заболеваний и желудочно-кишечных расстройств. С точки зрения питательности, хлеб в значительной степени отражает пищевую ценность муки и другого сырья, из которого он получен, поэтому необходимо постоянно улучшать его питательные и органолептические свойства. Так как этот

продукт является одним из наиболее широко используемых пищевых продуктов в рационе, необходимо найти эффективные способы дополнить рацион биологически активными соединениями за счет обогащения хлеба (Hooda & Jood, 2005).

Отработанное пивоваренное зерно (Дробина / BGS) - это побочный продукт процесса пивоварения, состоящий из твердого остатка, остающегося после затирания и фильтрации. В основном он состоит из шелухи зерна и других остаточных соединений, которые не превращаются в сбраживаемый сахар в процессе затирания (Леснов, 2011). Традиционно этот материал либо выбрасывают, либо продают в качестве корма для животных. С другой стороны, пищевая промышленность стремится найти новые решения с добавленной стоимостью, которые изменят традиционный взгляд на «отходы» и переклассифицируют их в «побочные продукты». Использование BGS, имеющего низкую денежную ценность, в качестве высокопитательного функционального ингредиента может повысить экономический потенциал пивоваренного предприятия и улучшить диетические свойства различных пищевых продуктов (Скляренко, 2015).

На пивоваренном заводе солодовый ячмень измельчается, смешивается с водой в заторном чане, а затем температура затора медленно повышается с 37 °С до 78 °С, чтобы способствовать ферментативному гидролизу составляющих солода. Сладкая жидкость, полученная на этой стадии затирания, известна как сусло. Нерастворимой, неразложившейся части зерна ячменного солода дают осесть, чтобы сформировать слой в заторном чане, и сладкое сусло фильтруется через него (Колпакчи, 1986). После завершения процесса осахаривания чистое сладкое сусло отделяется от твердых компонентов - отработанного зерна. Затем сусло перекачивается в варочный котел для сусла, а дробина удаляется из фильтровального чана.

Помимо пищевой ценности, одним из основных преимуществ использования BSG в рационе человека является то, что в процессе пивоварения используются ингредиенты, одобренные для пищевого потребления. Следовательно, дробина может быть успешно использована для разработки новых пищевых продуктов, которые могут быть полностью одобрены регулирующими органами здравоохранения (Mukherjee, 2019).

Основная цель обогащения хлеба BSG - получить продукт с функциональными пищевыми характеристиками с точки зрения питания человека. Научные исследования показали, что даже несмотря на то, что на химический состав BSG могут влиять некоторые внутренние (разновидность ячменя) или внешние (время сбора урожая, условия соложения и затирания, а также тип и качество вторичного сырья, добавляемого в процессе пивоварения), факторы, дробина всегда имеет в своем составе значительное количество пищевых волокон, белков и незаменимых аминокислот, а также значительный уровень минералов, полифенолов, витаминов и липидов (Колпакчи, 1986).

Дробина является отличным источником пищевых волокон (60-71%). Целлюлоза и гемицеллюлоза вместе составляют почти 50% (мас.) Состав дробины, свидетельствует о наличии большого количества сахаров в этом материале, причем наиболее распространенными являются ксилоза, глюкоза и арабиноза (Сницарь, 2004). Исследования питания показали, что потребление пищевых волокон (например, лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы) выполняет различные функции в организме человека, оказывая благоприятное воздействие на здоровье, включая снижение риска сердечно-сосудистых заболеваний, запоров, раздражения толстой кишки, рака толстой кишки, ожирения и диабета (Сницарь, 2004).

BSG также является источником ценного белка, незаменимые аминокислоты составляют примерно 30% от общего содержания белка. Лизин, который, как известно, является лимитирующей аминокислотой в продуктах, полученных из злаков, составляет 14,3% от общего содержания белка дробины (Склярченко, 2015; Колпакчи, 1986). Принимая во внимание вышеупомянутый пищевой состав, BSG является идеальным компонентом для обогащения хлеба.

В настоящей статье рассматривается положительное влияние дробины на качество хлебобулочных изделий, ее вклад в питательный состав, а также на сенсорные свойства обогащенного хлеба при добавлении 5, 10, 15 и 20% BSG от общего количества муки.

Методы исследования

Предварительная подготовка дробины

Высокое исходное содержание влаги в свежей дробине (75-80%) и присутствие значительных уровней полисахарида и белка делают ее особенно восприимчивой к микробной деградации в течение нескольких дней (Stojceska, Ainsworth, Plunkett, & Ibanoglu, 2008). Поэтому необходимо сразу после изготовления применить метод консервации.

Свежие образцы BSG, предназначенные для использования в приготовлении хлеба, консервируют сушкой в печи при 78°C в течение 12 часов. Затем образцы, обожженные в печи до содержания влаги 6%, измельчают в муку с помощью лабораторной мельницы, упаковывают в герметичные (желательно вакуумные) полиэтиленовые пакеты и хранят при комнатной температуре до использования.

Приготовление хлеба

Приготовление хлеба с различным содержанием дробины практически не отличается от приготовления продукции из 100% хлебопекарной муки. Смесь муки (с добавлением 5, 10, 15 и 20% дробины) смешивается с 1,8%-2% соли и 2,5-3% свежих дрожжей и с водой. После смешивания тесто выдерживается в расстойном шкафу при 35°C и относительной влажности 85% в течение 60 минут, после чего из него формируются хлебобулочные изделия и помещаются в формы для выпечки с антипригарным покрытием. Затем тесто подвергают расстойке в течение 50 минут при тех же условиях и сразу выпекают в предварительно нагретой печи

при 220°C на верхнем и нижнем нагреве в течение 45 минут. Духовой шкаф должен быть предварительно пропарен до и после помещения хлеба.

Содержание влаги, общее содержание клетчатки, белков, жиров, минералов и углеводов, а также калорийность пяти испытанных рецептур хлеба являются одними из определяющих показателей качества любого хлеба. Хлеб с добавлением дробины оценивается по таким же показателям. Влажность, общее содержание клетчатки, белка, жира и уровни минералов увеличиваются пропорционально количеству добавленного BSG, в то время как углеводная и энергетическая ценность уменьшается.

Результаты

Добавленная дробина сильно влияет на общее содержание клетчатки в образцах обогащенного хлеба. Таким образом, добавление 5% BSG удваивает общее количество клетчатки в хлебе, в то время как рецептура хлеба с 20% BSG имеет общий уровень клетчатки в пять раз выше, чем хлеб из 100% хлебопекарной муки.

Хотя потребление пищевых волокон имеет важные последствия для здоровья человека (Anderson, Baird, Davis, Ferreri, Knudtson, & Koraym, 2009), потребление клетчатки как правило ниже рекомендованного. Таким образом, хлеб, обогащенный BSG, можно считать хорошим источником пищевых волокон для достижения необходимого суточного потребления клетчатки (28-36 г/день), необходимого для здорового питания (Anderson, Baird, Davis, Ferreri, Knudtson, & Koraym, 2009).

Увеличение содержания влаги с 37,43% для образца без добавления дробины до 42,09% для образца, содержащего 20% BSG, можно объяснить увеличением содержания волокон, которое приводит к более высокому водопоглощению во время приготовления теста. Напротив, общее количество

углеводов уменьшается (с 53,69% до 40,46%) по мере увеличения содержания BSG. Главный углевод в пшеничной муке представлен крахмалом, в то время как BSG содержит только остаточное количество крахмала, причем это соединение расходуется в результате интенсивного амилолиза во время процесса затирания (Anderson et al., 2009; Makowska, Mindler-Szkudlarz, & Obuchowski, 2013).

Согласно недавним исследованиям, преобладающими липидами, идентифицированными в BSG, были триглицериды (от 55% до 67% всех идентифицированных липидных соединений), за которыми следовало значительное количество свободных жирных кислот (от 18% до 30%) с полезными свойствами для здоровья (Del Rio, Prinsen, & Gutierrez, 2013). Добавление BSG до 20% увеличивает количество общих липидов почти в 3 раза.

Микроэлементы в виде минералов также являются важными компонентами при рассмотрении питательных свойств потенциального пищевого ингредиента. Содержание минералов увеличилось с 0,44% до 1,29% для хлеба с добавкой 20% BSG, включая относительно высокие количества кальция, магния и фосфора.

Увеличение BSG в рецептуре хлеба привело к значительному увеличению питательной ценности хлеба и значительно улучшает содержание пищевых волокон, белков, жиров и минералов в выпечке (Del Rio et al., 2013; Леснов, 2011; Ktenioudaki, Crofton, Scannel, Hannon, Kilcawley, & Gallagher, 2013).

Одна из основных проблем, связанных с включением BSG в пищевые продукты, - это влияние на вкус. Соединения, идентифицированные по летучему профилю образцов хлеба, и их концентрации, перечислены в таблице 2.

Большинство ароматических веществ, как правило, содержится в пшеничном хлебе, они образу-

Таблица 1
Анализ состава хлеба, содержащего различные уровни BSG

Дробина, (%)	Влажность (%)	Клетчатка (%)	Белок (%)	Жиры (%)	Минералы (%)	Углеводы (%)	Эн ценность (kcal/100g)
0	37.43±2.12	0.81±0.06	6.64±0.3	0.39±0.02	0.44±0.02	53.69±3.75	244.83±6.12
5	38.51±1.23	1.91±0.08	7.49±0.86	0.48±0.09	0.68±0.01	49.16±1.96	230.92±4.27
10	40.02±0.91	2.8±0.21	8.28±0.44	0.61±0.01	0.92±0.06	46.22±2.14	223.49±5.09
15	41.14±1.02	3.76±0.34	9.13±0.67	0.72±0.01	1.17±0.21	43.82±1.82	218.28±2.98
20	42.09±0.83	4.52±0.18	10.03±1.12	0.97±0.00	1.29±0.07	40.46±2.03	210.69±3.56

ются во время ферментации, реакции Майяра или окисления липидов. Преобладающими являются спирты (2-метил-1-пропанол, 3-метил-1-бутанол и 2-метил-1-бутанол) и соответствующие альдегиды (2-метилпропаналь, 3-метилбутаналь и 2-метилбутаналь). Концентрация этих соединений в рецептуре хлеба, содержащей 15% и 20% BSG, в три-восемь раз выше, чем в хлебе без дробины. Их атрибут запаха, как правило, описывается как солодовый вкус (Coghe, Martens, D'Hollander, Dirinck, & Delvaux, 2004).

Три летучих компонента, нонаналь, 2-пентилфуран и лимонен, идентифицируются только в образцах хлеба, содержащих BSG. Нонаналь и 2-пентилфуран были обнаруживаются только в рецептурах хлеба, содержащих 15% и 20% BSG, тогда как лимонен был обнаружен во всех образцах хлеба с дробинкой, его концентрация возрастала с увеличе-

нием количества добавленного BSG. Вместо этого, толуол, соединение, запах которого может варьироваться от фруктового, карамельного до подобного растворителю, был обнаружен в относительно высоких количествах в хлебе с 0%, 5% и 10% BSG и отсутствовал в образцах с 15% и 20% BSG.

Обычно концентрация обнаруживаемых летучих соединений увеличивается с увеличением количества добавленной дробины. Тем не менее, существуют определенные соединения, такие как 2-метилпропаналь, 3-метилбутаналь и 2-метилбутаналь, концентрация которых в 5% -ном составе BSG немного ниже, чем в образце 0% BSG. Эти данные объясняются факторами, влияющими на высвобождение летучих соединений, а также изменениями в микроструктуре образцов хлеба, вызванными добавлением BSG (Dong, Piao, Zhang, Zhao, & Hou, 2013).

Таблица 2

Ароматические составляющие в хлебе в зависимости от содержания дробины.

Компонент	Аромат	Содержание дробины, %				
		0	5	10	15	20
Спирты						
2-Метил-1-пропанол	Винный, растворитель	37.83	37.83	75.70	104.71	137.83
2-Метил-1-бутанол	Спиртовой, зелень, солодовый	6.46	8.17	18.81	34.95	42.57
3-Метил-1-бутанол	Солодовый, спиртовой, фруктовый, виски	82.15	106.16	185.01	291.41	312.81
Альдегиды						
2-Метил-1-пропанал	Винный, солодовый, растворитель,	10.32	7.68	10.22	82.96	79.61
2-Метил-1-бутанал	Солодовый, кокос, масляный,	9.84	6.33	10.41	75.05	84.74
3-Метил-1-бутанал	Масляный, кокос, темный шоколад, миндаль	15.46	12.08	21.90	130.35	136.75
Гексанал	Зелень, травяной, жир	4.08	4.03	5.83	12.69	15.30
Бензальдегид	Миндаль, жженный сахар	3.30	4.55	4.77	5.82	5.58
Нонал	Жир, цитрус, зелень	0.00	0.00	0.00	2.03	1.12
Кетоны						
2,3 Бутандион	Масляный, сырный	5.48	3.53	6.61	7.71	9.06
2,3 Пентандион	Сливки, масло	0.00	0.00	0.00	3.58	4.27
Ацетофенон	Сусло, миндаль, цветочный	2.39	2.89	1.68	3.46	1.44
Другое						
2-Пентил-фуран	Зеленая фасоль, масло	0.00	0.00	0.00	8.91	9.55
Лимонен	Цитрус, мята	0.00	2.46	6.00	19.02	18.2
Толуол	Жгучий, карамельный, фруктовый, растворитель	10.35	10.37	9.08	0.00	0.00

Ароматические соединения, перечисленные в таблице 2, имеют широкий спектр дескрипторов приятного и неприятного запаха, но вклад каждого соединения в аромат образцов хлеба зависит от его пороговых значений запаха, а также от матрицы продукта. Кроме того, вкус, придаваемый пище определенным летучим соединением, напрямую связан с его концентрацией, высвобождением во время жевания и присутствием других летучих соединений (Dong et al., 2013).

Сенсорное качество пищевых продуктов - ключевой фактор в процессе принятия решений потребителем. Гедоническое тестирование часто используется для определения отношения потребителя к пище путем измерения степени принятия нового

продукта или улучшения существующего продукта питания (Dong et al., 2013).

Очень важно, чтобы органолептические свойства хлеба, улучшенные за счет использованного пивоваренного зерна, оставались приемлемыми для потребителей, а уровень качества был аналогичен существующим коммерчески доступным продуктам. Сенсорной оценка образцов хлеба, содержащих добавки BSG по сравнению с обычным хлебом, показаны в таблице 3.

Снижение приемлемости наблюдалось, когда уровни BSG были выше 10%. Хлеб с 5% заменой BSG имел наивысший балл приемлемости (7,88), а также по другим органолептическим характери-

Таблица 3
Сенсорная оценка

Дробина	Цвет	Аромат	Вкус	Текстура	Приемлемость
0 %	7.9	7.58	7.58	7.9	7.8
5 %	7.9	7.5	7.63	7.9	7.88
10 %	7.88	7.68	7.53	7.78	7.83
15 %	7.48	7.2	7.3	7	7.33
20 %	7.7	7.1	7.03	6.75	7.35

стикам. Также можно заметить, что образцы хлеба с добавлением 5% и 10% BSG показали результаты, аналогичные результатам контрольного образца, полученного только из пшеничной муки. Увеличение содержания дробины (15% и 20%) привело к более низким оценкам общих характеристик приемлемости (7,33 соответственно 7,35).

Обсуждение

Признаками, которые повлияли на приемлемость, были преимущественно вкус и текстура, при этом образцы, содержащие как 15%, так и 20% BSG, получали значительно более низкие оценки по сравнению с контролем, и образцов с добавлением 5% и 10% BSG. Для всех образцов хлеба оценки текстуры уменьшались с увеличением замещения BSG и одновременно с увеличением содержания клетчатки. В общем, добавление богатых клетчаткой ингредиентов привело к увеличению твердости мякиша за счет сшивки белков глютена (Autto, Kruss, Knaapila, Gerber, Flander, & Buchert, 2005). Цвет ломтиков хлеба становился визуально темнее по мере увеличения уровня дробины, что напрямую связано с увеличением содержания клетчатки.

Значительное увеличение количества летучих соединений с солодовым вкусом в рецептурах хлеба с 15% и 20% BSG по сравнению с образцами с 0%, 5% и 10% BSG может быть причиной плохих оценок, полученных для этих образцов.

Наконец, сенсорная оценка показала, что хлеб с замещением BSG до 10% получил более высокий балл, чем контрольный образец белого хлеба. Исследования продемонстрировали, что добавление BSG на уровне 15% является верхним пределом органолептической приемлемости.

Вывод

Замена пшеничной муки 5-20% BSG привела к получению рецептур хлеба с повышенной питательной ценностью (повышенное содержание клетчатки, белков, жиров и минералов) и с приятными вкусовыми качествами, которые придают характерные летучие соединения. Общая приемлемость хлеба, обогащенного BSG, на основании сенсорного анализа, показала хорошие органолептические свойства образцов с содержанием дробины до 10%. Полученные результаты указывают на возмож-

ность использования BSG в качестве недорогого источника пищевых волокон в хлебопечении с целью обогащения рациона.

Литература

- Колпакчи, А. П. (1986). *Вторичные материальные ресурсы пивоварения*. Агропромиздат.
- Леснов, А. П., Никитин, С. И., & Лазаревич Александр Николаевич (2011). Современные биотехнологии переработки пивной дробины в высокобелковые экологически безопасные корма. *Природообустройство*, (4), 26-31.
- Скляренко, С. А., Шаров, В. И., & Баландин, В. Г. (2016). Биоэкономика переработки отходов пивоваренной отрасли для вторичного потребления предприятиями пищевой промышленности. *Биоэкономика и экологиополитика*, 1(2), 86-90.
- Сницарь, А. И., Космадемьянский, Ю. В., Дардик, В. Б., & Иванов, А. В. (2004). Обоснование работы и экономической эффективности линии производства муки из пивной дробины. *Вестник Аромарос - М*, 28-29.
- Anderson, J., Baird, P., Davis, R., Ferreri, S., Knudtson, M., & Koraym, A. (2009). Healths benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67(4), 188-205. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00189.x>
- Autio, K., Kruus, K., Knaapila, A., Gerber, N., Flander, L., & Buchert, J. (2005). Kinetics of transglutaminase-induced cross-linking of wheat proteins in dough. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(4), 1039–1045. <https://doi.org/10.1021/jf0485032>
- Coghe, S., Martens, E., D'Hollander, H., Dirinck, P., & Delvaux, F. (2004). Sensory and instrumental flavour analysis of wort brewed with dark specialty malts. *Journal of the Institute of Brewing*, 110(2), 94–103.
- Del Rio, J., Prinsen, P., & Gutierrez, A. (2013). Chemical composition of lipids in brewer's spent grain: A promising source of valuable phytochemicals. *Journal of Cereal Science*, 58(2), 248-254. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.07.001>
- Dong, L., Piao, Y., Zhang, X., Zhao, C., & Hou, Y. (2013). Analysis of volatile compounds from a malting process using headspace solid-phase micro-extraction and GC-MS. *Food Research International*, 51(2), 783–789. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.052>
- Hooda, S., & Jood, S. (2005). Effect of fenugreek flour blending on physical, organoleptic and chemical characteristics of wheat bread. *Nutrition and Food Science*, 35(4), 229-242. <https://doi.org/10.1108/00346650510605621>
- Ktenioudaki, A., Crofton, E., Scannel, G., Hannon, J., Kilcawley, K., & Gallagher, E. (2013). Sensory properties and aromatic composition of baked snacks containing brewer's spent grain. *Journal of Cereal Science*, 57(3), 384-390. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.01.009>
- Makowska, A., Mildner-Szkudlarz, S., Obuchowski, W. (2013). Effect of Brewer's Spent Grain Addition on Properties of Corn Extrudates with an Increased Dietary Fibre Content. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 63(1), 19-24. <https://doi.org/10.2478/v10222-012-0061-9>
- Mukherjee, P. K. (2019). Bioactive phytocomponents and their analysis. In *Quality Control and Evaluation of Herbal Drugs*, (p. 237-328). Elsevier.
- Stojceska, V., Ainsworth, P., Plunkett, A., & Ibanoglu, S. (2008). The recycling of brewer's processing by-product into ready-to-eat snacks using extrusion technology. *Journal of Cereal Science*, 47(3), 469-479. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.05.016>

Nutritional Properties of Bread With the Addition of Brewing Spent Grains

Vladimir V. Zhitkov¹, Boris N. Fedorenko¹,
Alexander V. Bykov¹

¹ *Moscow State University of Food Production*

Correspondence concerning this article should be addressed to Vladimir V. Zhitkov, Moscow State University of Food Production, 11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation. E-mail: vladimir.v.zhitkov@gmail.com

Waste brewing grain, also called spent grain, is a cheap by-product of brewing, and at the same time a valuable source of dietary fiber, protein and essential amino acids, minerals, polyphenols, vitamins and lipids. Taking into account the valuable nutritive properties of spent grain, a rational approach is to include it in bread and evaluate its contribution to the nutritional composition, profile of volatiles, and also its effect on the sensory properties of fortified bread. Replacing bread flour with 5%, 10%, 15% and 20% grain flour has resulted in bread formulations with increased nutritional value (higher fiber, protein, fat and minerals) and flavoring qualities that impart characteristic volatile compounds. Sensory analysis has shown that, compared to bread made with 100% flour, bread formulations with up to 10% grains have good organoleptic characteristics, which indicates the possibility of using this by-product as an enrichment ingredient in baked goods.

Key words: brewing grain, grain, BGS, bread, volatile compounds, nutritional value, functional ingredient.

References

- Kolpakchi, A. P. (1986). *Vtorichnye material'nye resursy pivovareniya* [Secondary material resources of brewing]. Agropromizdat.
- Lesnov, A.P., Nikitin, S.I., & Lazarevich Alexander Nikolaevich (2011). Modern biotechnology for processing brewer's grains into high-protein, environmentally friendly feed. *Prirodooobustroystvo* [Environmental management], (4), 26-31.
- Sklyarenko, S. A., Sharov, V. I., & Balandin, V. G. (2016). Bioeconomics of recycling waste from the brewing industry for secondary consumption by food industry enterprises. *Bioekonomika i ekobiopolitika* [Bioeconomics and Ecobiopolitics], 1(2), 86-90.
- Snitsar, A. I., Kosmademyansky, Yu.V., Dardik, V. B., & Ivanov, A. V. (2004). Justification of the operation and economic efficiency of the line for the production of flour from beer drobina. *Vestnik Aromaros - M* [Aromaros Bulletin - M], 28-29.
- Anderson, J., Baird, P., Davis, R., Ferreri, S., Knudtson, M., & Koraym, A. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67(4), 188-205. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00189.x>
- Autio, K., Kruus, K., Knaapila, A., Gerber, N., Flander, L., & Buchert, J. (2005). Kinetics of transglutaminase-induced cross-linking of wheat proteins in dough. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(4), 1039-1045. <https://doi.org/10.1021/jf0485032>
- Coghe, S., Martens, E., D'Hollander, H., Dirinck, P., & Delvaux, F. (2004). Sensory and instrumental flavour analysis of wort brewed with dark specialty malts. *Journal of the Institute of Brewing*, 110(2), 94-103.
- Del Rio, J., Prinsen, P., & Gutierrez, A. (2013). Chemical composition of lipids in brewer's spent grain: A promising source of valuable phytochemicals. *Journal of Cereal Science*, 58(2), 248-254. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.07.001>
- Dong, L., Piao, Y., Zhang, X., Zhao, C., & Hou, Y. (2013). Analysis of volatile compounds from a malting process using headspace solid-phase microextraction and GC-MS. *Food Research International*, 51(2), 783-789. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.052>
- Hooda, S., & Jood, S. (2005). Effect of fenugreek flour blending on physical, organoleptic and chemical characteristics of wheat bread. *Nutrition and Food Science*, 35(4), 229-242. <https://doi.org/10.1108/00346650510605621>
- Ktenioudaki, A., Crofton, E., Scannel, G., Hannon, J., Kilcawley, K., & Gallagher, E. (2013). Sensory properties and aromatic composition of baked snacks containing brewer's spent grain. *Journal*

How to Cite

Zhitkov, V. V., Fedorenko, B. N., & Bykov, A. V. (2020). Nutritional properties of bread with the addition of brewing spent grains. *Health, Food & Biotechnology*, 2(4). <https://doi.org/10.36107/hfb.2020.i4.s75>

- of Cereal Science*, 57(3), 384-390. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.01.009>
- Makowska, A., Mildner-Szkudlarz, S., Obuchowski, W. (2013). Effect of Brewer's Spent Grain Addition on Properties of Corn Extrudates with an Increased Dietary Fibre Content. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 63(1), 19-24. <https://doi.org/10.2478/v10222-012-0061-9>
- Mukherjee, P. K. (2019). Bioactive phytochemicals and their analysis. In *Quality Control and Evaluation of Herbal Drugs*, (p. 237-328). Elsevier.
- Stojceska, V., Ainsworth, P., Plunkett, A., & Ibanoglu, S. (2008). The recycling of brewer's processing by-product into ready-to-eat snacks using extrusion technology. *Journal of Cereal Science*, 47(3), 469-479. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.05.016>

A Study on the Genetic Variation in Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) in Iran by Molecular DNA Markers (RAPD)

Mahboobeh Ahangaran¹, Mahmood Gharaviri¹, Majid Masoumian¹

¹ *Moscow State University of Food Production*

Correspondence concerning this article should be addressed to Mahboobeh Ahangaran, Moscow State University of Food Production, 11 Volokolamskoe highway, Moscow, 125080, Russian Federation. E-mail: ahangaran@hotmail.com

Thirty ecotypes of licorice (a medicinal plant) from all of Iran were collected and genetically evaluated. To assess the genetic diversity of licorice, genomic DNA was extracted using Winnepenninckx method (CTAB method). 12 random primers were used to perform PCR. All 12 primers showed obvious and repeatable bands. Totally, 1343 bands were produced. Bands size varied from 250 to 5000 bp. Percentage of polymorphism and polymorphic loci was 88.83% and 95.5%, respectively. The highest number of band was related to primer OPN-08 (band 188). The highest similarity between Esfaraïen and Bojnourd ecotypes is equal to 0.647. Kermanshah and Orumieh ecotypes had the lowest similarity that was 0.3. Dendrogram divided 30 ecotypes into 5 groups in terms of genetic distance. Generally, surveying the variation in genotypes of licorice using RAPD marker showed that this marker can be useful in identifying the polymorphism, estimating the genetic distance, and managing germplasm.

Keywords: licorice; genetic diversity; genetic relationships; UPGMA; molecular markers; RAPD

Introduction

Medicinal plants have been used as the main factor in healing and pain treatment in great civilizations of the world (Craker and Gardner, 2006). One of the most popular medicinal plants of the Fabaceae family is *Glycyrrhiza glabra*. The extract of this plant is currently used in the pharmaceutical and functional food industries, as well as in food supplements (Pastorino, 2018).

Thirty species of *glycyrrhiza* are found worldwide. In Europe and China, the roots and rhizomes of *Glycyrrhiza uralensis*, *Glycyrrhiza inflata* and *Glycyrrhiza glabra* are used, while in Japan and the United States, two species, *glabra* and *uralensis*, are used (Li et al., 2019).

Glycyrrhizic acid is active substances of licorice root. It is 50 times sweeter than sugar (Lee, 2018). Licorice extract is used as an important ingredient in the tobacco, cosmetic industries and as a sweetener in beverage preparation and food. The root properties of this plant, in addition to protecting the bones, also show the effective role of anti-diabetic, anti-lipidemic and hypocholesterolemic actions (Galanis et al., 2019).

The origin of genetic diversity in plants is through three ways of genetic recombination, changes in chromosome number and mutations (Arzani & Mortazavi, 2002). In plant breeding, Genetic selection requires genetic diversity and increasing genetic diversity makes the range of our choice wider. On the other hand, characterization and grouping of germplasm allows reformers to avoid duplication in the sampling of the population. Heterosis increases function of biological quality in a hybrid offspring or hybrid superiority over average parents which depend on the genetic distance between parents. To investigate the genetic distance between parents, plant varieties should be classified (Nematzadeh & Kiani, 2004).

In recent years, the use of molecular markers is a very powerful method for analyzing genetic diversity because it shows the relationship between genetic diversity and phenotype (Garrido-Cardenas et al., 2018). Genetic, DNA-based molecular markers have been made since the 1990s, that (RAPD) random amplified polymorphic DNA being one of them. This marker is widely used alone or in combination with other markers for genetic evaluation of medicinal plants (Shangyi et al., 2017).

How to Cite

Ahangaran, M., Gharaviri, M., & Masoumian, M. (2020). A Study on the Genetic Variation in Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) Iran by Molecular DNA Markers (RAPD). *Health, Food & Biotechnology*, 2(4). <https://doi.org/10.36107/hfb.2020.i4.s76>

RAPD a molecular marker is one of the most popular markers that have been used in different fields such as determining the components of the medicinal plants and in pharmaceutical formulations (Chawla, 2002; Adiguzel et al., 2006). RAPD technology with short, arbitrary, single-stranded synthetic oligonuclear primers (usually 10 bp in length) using polymerase chain reaction amplifier (PCR) can generate large numbers of anonymous DNA fragments (Heubl, 2010).

This study aimed to evaluate the genetic diversity of landraces of licorice and their grouping was performed using RAPD markers.

Materials and Methods

Plant material

30 different ecotypes of licorice were collected from research centers of, Gilan, Mazandaran, Golestan, N^orth Khorasan, Semnan, Markazi, Hamedan, Yazd, Kerman, Hormozgan, Ardabil, East Azerbaijan, West Azerbaijan, Kermanshah, Chaharmahal and Bakhtiari, Khuzestan, Zanjan, Kurdistan, Lorestan, Ilam provinces.

The pots seeds and the soil were firstly disinfected and then, dormancy of the seeds was broken using the sand paper and each seed was planted separately in small pots. After two months, they grew up to their 4 leaf stage.

DNA extraction

Plant tissues were powdered by liquid nitrogen, and DNA extracted from samples by Winnepenninckx Method (Winnepenninckx et al., 1993). DNA quality was determined by electrophoresis method. Gel was stained with ethidium bromide.

Primers used in this study

12 RAPD random primers were used to amplify genomic DNA.

RAPD analysis

PCR reaction buffer in a volume of 25 µl was contained 2.5 µl PCR buffer, 2mM MgCl₂, 0.4 µM primer, 0.2 µM dNTP, a single tag enzyme of polymerase and 50 µg/ml DNA.

A thermocycler with the following conditions was used to amplify DNA: Initial denaturation at 94°C for 5 minutes and then 36 cycles consisted of the

following denaturation (10 seconds, 94°C), primer annealing (45 seconds, while the temperature varied for each primer), primer extension (1 min 72°C) and final cycle of 5 minute at 72°C to develop the product. PCR products observed by electrophoresis with 1.5% agarose gel using an electric current with a voltage of 80 mA for 50 minutes.

1 Kb ladder was used in first well and staining was performed using ethidium bromide.

Data analysis

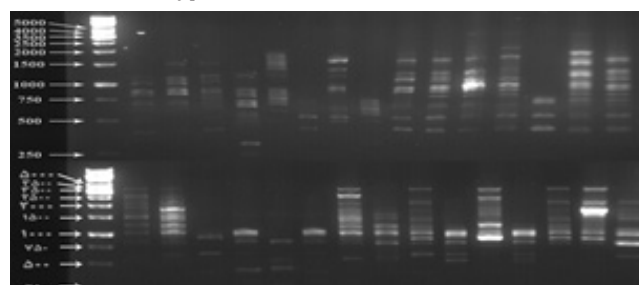
To analyze RAPD data NTSYS and PopGen software were used. Presence or absence of each observed bands were scored with the numbers 1 and 0, respectively. Similarity coefficient value was between zero and one, Zero value indicates the common bands (non-genetic similarity) and One- value shows the value of similar-band patterns (complete genetic similarity). Data analyzed based on Jaccard coefficient of similarity and unweighted pair-group method with arithmetic mean (UPGMA) method.

Results

Genetic diversity of licorice was performed with PopGen32 and SPSS9. Three criteria were considered in this assessment: 1) A high level of polymorphism that was achieved. 2) Repeatable data which was produced. 3) A comparison between software that used different similarity coefficients (Nei and Jaccard).

Clustering resulted from both software divided 30 ecotypes into 5 separated groups. The percentage of polymorphism and the number of polymorphic loci was determined 88.83% and 95.5%, respectively. Cophenetic Correlation Coefficient for Jaccard and Nei coefficient of similarity was 0.79 that a good fitness between dendrogram (cluster analysis) and the original similarity matrix.

Figure1
Amplification profiles of plants by primer OPA-16 For 30 licorice ecotypes



A total of 1343 bands were produced by these indicators. The bands' size varies from 250 to 5000 bp. In this regard, the highest similarity for Bojnourd and Esfaraïen ecotypes was 0.647 while the least similarity

for the ecotypes of Kermanshah and Orumieh was 0.3. The highest rate of band was belonging to OPN-08 (band 188), so this initiator could determine better genetic distance of the ecotypes.

Table 1

List of primers, their sequence, number of detected loci, number of polymorphic loci and size of amplified product generated by RAPD primers

S. NO.	Primer code	Primer Sequence (50–30)	Detected loci	Polymorphic loci	Total no. of bands	Range of amplification (kb)
1	OPA-02	TGCCGAGCTG	10	10	96	250-3500
2	OPA-03	AGTCAGCCAC	8	7	119	200-2500
3	OPA-16	AGCCAGCGAA	10	10	109	500-3000
4	OPD-01	TTGGCACGGG	11	11	125	250-3000
5	OPD-02	GGACCCAACC	7	6	105	200-3000
6	OPF-16	GGAGTACTGG	9	9	46	500-3000
7	OPK-19	CACAGGCGGA	10	10	98	200-2500
8	OPN-05	ACTGAACGCC	9	8	108	200-2500
9	OPN-08	ACCTCAGCTC	10	9	188	200-2000
10	OPN-11	TCGCCGCAAA	9	8	110	250-2500
11	OPN-17	CATTGGGGAG	10	10	131	200-5000
12	OPU-12	TCACCAGCCA	9	9	108	300-2000

Figure 2

Dendrogram depicting the genetic relationship among 30 *G. glabra* ecotypes were constructed using UPGMA method based on Jaccard's coefficient similarity.

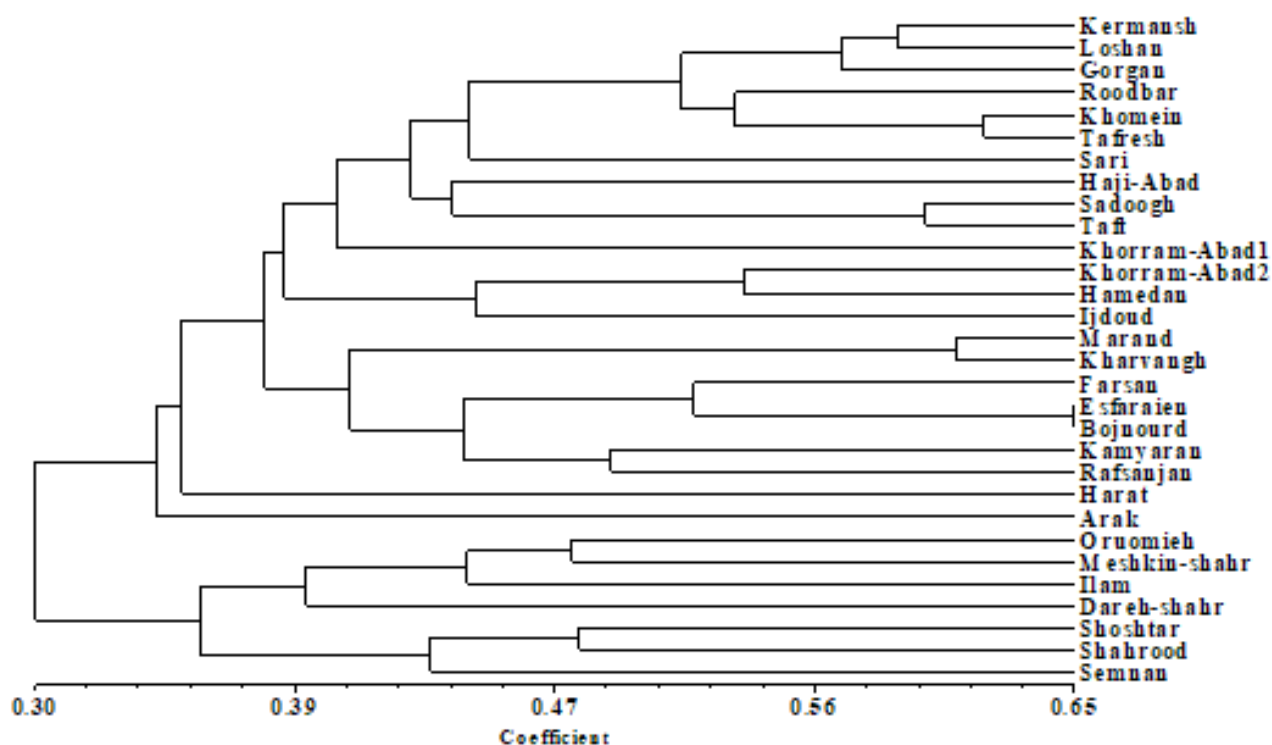


Table 2
Jaccard similarity coefficients

Case	Kermanshah	Gorgan	Loshan	Roodbar	Khorram-Abad1	Khorram-Abad2	Sari	Arak	Khomein	Tafresh	Hamedan	Haji-Abad	Harat	Sadoogh	Taft	Marand	Kharvagh	Oruomieh	Meshkin-shahr	Dareh-shahr	Ilam	Farsan	Esfaraen	Bojnourd	Shooshtar	Ijdoud	Semnan	Shahrood	Kamyaran	Rafsanjan	
Kermanshah	1.00	.56	.59	.47	.47	.35	.39	.31	.56	.54	.35	.42	.40	.36	.42	.40	.38	.38	.29	.33	.32	.33	.43	.39	.28	.29	.28	.27	.37	.38	
Gorgan	.56	1.00	.58	.51	.44	.44	.51	.44	.51	.45	.45	.33	.37	.39	.51	.42	.42	.34	.27	.35	.26	.42	.41	.35	.25	.38	.26	.26	.36	.35	
Loshan	.59	.58	1.00	.55	.45	.36	.46	.31	.48	.56	.32	.38	.34	.41	.49	.47	.45	.33	.30	.30	.26	.29	.37	.32	.23	.32	.24	.22	.35	.38	
Roodbar	.47	.51	.55	1.00	.43	.34	.42	.32	.51	.56	.40	.43	.37	.39	.37	.45	.36	.34	.26	.26	.33	.34	.39	.29	.32	.34	.21	.24	.38	.43	
Khorram-Abad1	.47	.44	.45	.43	1.00	.38	.38	.35	.35	.35	.36	.43	.32	.36	.35	.36	.30	.36	.30	.30	.28	.29	.34	.34	.27	.30	.26	.33	.28	.34	
Khorram-Abad2	.35	.44	.36	.34	.38	1.00	.38	.38	.41	.43	.54	.42	.31	.45	.44	.32	.31	.32	.28	.41	.29	.36	.43	.35	.30	.44	.30	.32	.38	.37	
Sari	.39	.51	.46	.42	.38	.38	1.00	.39	.43	.45	.39	.44	.29	.38	.40	.40	.36	.30	.34	.27	.29	.41	.39	.31	.26	.36	.20	.27	.38	.36	
Arak	.31	.44	.31	.32	.35	.38	.39	1.00	.35	.26	.37	.34	.24	.40	.40	.28	.32	.25	.24	.24	.24	.35	.27	.34	.29	.34	.23	.31	.35	.36	
Khomein	.56	.51	.48	.51	.35	.41	.43	.35	1.00	.62	.39	.42	.51	.48	.49	.44	.34	.27	.24	.36	.32	.37	.45	.36	.28	.36	.25	.31	.45	.42	
Tafresh	.54	.45	.56	.56	.35	.43	.45	.26	.62	1.00	.37	.48	.40	.46	.47	.46	.35	.27	.29	.31	.34	.33	.40	.32	.33	.37	.31	.24	.52	.42	
Hamedan	.35	.45	.32	.40	.36	.54	.39	.37	.39	.37	1.00	.44	.33	.44	.45	.32	.29	.36	.27	.31	.31	.36	.38	.35	.34	.45	.24	.32	.43	.35	
Haji-Abad	.42	.33	.38	.43	.43	.42	.44	.34	.42	.48	.44	1.00	.35	.45	.42	.36	.30	.30	.30	.22	.37	.36	.44	.39	.32	.38	.25	.36	.42	.39	
Harat	.40	.37	.34	.37	.32	.31	.29	.24	.51	.40	.33	.35	1.00	.37	.43	.33	.39	.28	.25	.31	.20	.32	.31	.28	.26	.26	.26	.27	.29	.35	
Sadoogh	.36	.39	.41	.39	.36	.45	.38	.40	.48	.46	.44	.45	.37	1.00	.60	.33	.31	.26	.23	.25	.31	.38	.33	.38	.28	.31	.20	.29	.45	.35	
Taft	.42	.51	.49	.37	.35	.44	.40	.40	.49	.47	.45	.42	.43	.60	1.00	.37	.33	.21	.23	.20	.22	.42	.36	.36	.24	.44	.20	.26	.44	.37	
Marand	.40	.42	.47	.45	.36	.32	.40	.28	.44	.46	.32	.36	.33	.33	.37	1.00	.61	.30	.32	.32	.31	.40	.41	.44	.26	.40	.29	.36	.47	.48	
Kharvagh	.38	.42	.45	.36	.30	.31	.36	.32	.34	.35	.29	.30	.39	.31	.33	.61	1.00	.36	.34	.28	.25	.38	.35	.39	.28	.34	.32	.38	.38	.35	
Oruomieh	.38	.34	.33	.34	.36	.32	.30	.25	.27	.27	.36	.30	.28	.26	.21	.30	.36	1.00	.48	.45	.43	.29	.39	.32	.38	.28	.33	.38	.23	.28	
Meshkin-sha	.29	.27	.30	.26	.30	.28	.34	.24	.24	.29	.27	.30	.25	.23	.23	.32	.34	.48	1.00	.37	.46	.32	.37	.33	.39	.34	.40	.36	.30	.33	
Dareh-shahr	.33	.35	.30	.26	.30	.41	.27	.24	.36	.31	.31	.22	.31	.25	.20	.32	.28	.45	.37	1.00	.35	.19	.37	.31	.29	.25	.26	.32	.30	.29	
Ilam	.32	.26	.26	.33	.28	.29	.29	.24	.32	.34	.31	.37	.20	.31	.22	.31	.25	.43	.46	.35	1.00	.34	.48	.41	.45	.27	.35	.34	.30	.40	
Farsan	.33	.42	.29	.34	.29	.36	.41	.35	.37	.33	.36	.36	.32	.38	.42	.40	.38	.29	.32	.19	.34	1.00	.48	.56	.38	.44	.36	.40	.44	.40	
Esfaraen	.43	.41	.37	.39	.34	.43	.39	.27	.45	.40	.38	.44	.31	.33	.36	.41	.35	.39	.37	.37	.48	.48	1.00	.65	.44	.39	.30	.41	.41	.48	
Bojnourd	.39	.35	.32	.29	.34	.35	.31	.34	.36	.32	.35	.39	.28	.38	.36	.44	.39	.32	.33	.31	.41	.56	.65	1.00	.37	.44	.27	.44	.46	.47	
Shoshtar	.28	.25	.23	.32	.27	.30	.26	.29	.28	.33	.34	.32	.26	.28	.24	.26	.28	.38	.39	.29	.45	.38	.44	.37	1.00	.38	.48	.48	.40	.41	
Ijdoud	.29	.38	.32	.34	.30	.44	.36	.34	.36	.37	.45	.38	.26	.31	.44	.40	.34	.28	.34	.25	.27	.44	.39	.44	.38	1.00	.36	.38	.44	.41	
Semnan	.28	.26	.24	.21	.26	.30	.20	.23	.25	.31	.24	.25	.26	.20	.20	.29	.32	.33	.40	.26	.35	.36	.30	.27	.48	.36	1.00	.38	.27	.34	
Shahrood	.27	.26	.22	.24	.33	.32	.27	.31	.31	.24	.32	.36	.27	.29	.26	.36	.38	.38	.36	.32	.34	.40	.41	.44	.48	.38	.38	1.00	.35	.32	
Kamyaran	.37	.36	.35	.38	.28	.38	.38	.35	.45	.52	.43	.42	.29	.45	.44	.47	.38	.23	.30	.30	.30	.44	.41	.46	.40	.44	.27	.35	1.00	.49	
Rafsanjan	.38	.35	.38	.43	.34	.37	.36	.36	.42	.42	.35	.42	.35	.39	.35	.37	.48	.35	.28	.33	.29	.40	.40	.48	.47	.41	.41	.34	.32	.49	1.00

Discussion

According to the results, there is a good variation among Licorice in Iran. In this study, the ecotypes of Herat and Arak could be used to produce the parent ecotypes for heterozygous, because the two ecotypes are far apart in term of genetic similarities, so they have the greatest diversity. Few studies about genetic diversity of licorice with RAPD marker are available. One of them was the study in which researchers used RAPD marker with ten primers to study the genetic diversity of licorice. The results of the phylogenetic tree of 4 ecotypes of licorice were divided into two groups. This study showed that RAPD markers were suitable to identify diversity of licorice (Saito et al., 1994). Another research which was used to differentiating *G. glabra* from *Abrus precatorius* that was alternatively used as a fake species instead of the true one, licorice. Among 52 RAPD primers, 16 primers showed visible bands of the specific species (Salim et al., 2009). In addition, identification of *Atractylodes* plants (Chen et al., 2001), screening an elite strain Aizu K-111 of *Panax ginseng* (Komatsu et al., 2001) 2001, differentiating of *Senna surattensis* and *S. sulfuera* (Kumar et al., 2007) has been developed by RAPD. Therefore, RAPD was used as a complementary tool for quality control.

Base on the analysis 87.5% of the bands were polymorphic. However, the percentage of polymorphic bands in the other reported medicinal plants was 100% in *Poincianella pyramidalis* (Belarmino et al., 2017) and 51% chickpea (Yadav et al., 2015).

Mehrnia et al. (2005) studied relationship between related species of 20 Iranian *Astragalus microcephalus* and results showed that RAPD was the best molecular marker to classify systematic relationship between related species. Shakti et al., (2012) worked on *Glycyrrhiza glabra* to study genetic variation using RAPD. Liquid medium was used to grow the explants taken from a two-year-old licorice. 10 primers were used and 28.57% polymorphism was achieved. RAPD cluster analysis showed that all plants including the mother plant are placed in two main groups with a distribution of similarity coefficient between two extremes ranging from 0.91 to 0.96.

In a similar work, the RAPD analysis showed a high level of genetic diversity among 12 *Podophyllum hexandrum* collected from high-latitude regions. This study confirmed that RAPD markers were very useful tools for attributing to geographical and climatic conditions, genetic relationship and diversity. (Sultan et al., 2010).

Evaluating genetic similarity by RAPD marker was conducted among the four species of licorice and phylogenetic tree suggested that *G. glabra* and *G. uralensis* rich in glycyrrhizin have a closer relation compared to the *G. echinata* and *G. pallidiflora* (Yamazaki et al., 1994).

Moreover RAPD can be used to screen Inter and intra species diversity. Echinacea Interspecies diversity has been studied by RAPD markers (Kapteyn et al., 2002). it was the best tool for studying genetic diversity in the Tunisian bean population (*Vicia faba* L) (Backouchi et al., 2015), Chinese medicinal plant and three subspecies of *Meliss officinalis* (Ma et al., 2002), four *Glycyrrhiza* sp. and their relationship with commercial liquorice roots (Yamazaki et al., 1995), *Dendrobium officinale* (Ding et al., 2005), *Mimosae tenuiflorae* cortex (Rivera-Arce et al., 2007), *Rahmannia glutinosa* cultivars and varieties (Qi et al., 2008) and *Desmodium* species (Irshad et al., 2009).

Conclusion

In conclusion RAPD molecular marker was the best and only useful tool that can be used in evaluating genetic distance among different samples of licorice. In this study, %95.5 of bands was polymorphic. Bojnourd and Esfaraïen ecotypes have the highest similarity and the ecotypes of Kermanshah and Orumieh are placed at the farthest genetic distance from each other.

References

- Adiguzel, A., Agar, G., Baris, O., Medine, G., Fikrettin, S. & Meryem, S. (2006). RAPD and FAME analyses of *Astragalus* species growing in eastern Anatolia region of Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, 424-432.
- Arzani, A., & Mortazavi, A. (2002). *Principles of Genetic Analysis* (Sixth ed. Vol. Second). Print University of Esfahan.
- Backouchi, I. Z., Aouida, M., Khemiri, N., & Jebara, M. (2015). Genetic diversity in Tunisian populations of faba bean (*Vicia faba* L.) based on morphological traits and molecular markers. *Genetics and molecular research : GMR*, 14(3), 7587-7596. <https://doi.org/10.4238/2015.July.13.2>
- Belarmino, K. S., Rêgo, M. M., Bruno, R. L. A., Medeiros, J. D. A., Andrade, A. P., & Rêgo, E. R. (2017). Genetic diversity in a *Poincianella pyramidalis* (Tul) L.P. Queiroz population assessed by RAPD molecular markers. *Genetics and Molecular Research*,

- 16(3), gmr16039663. <https://doi.org/10.4238/gmr16039663>
- Chawla, H. S. (2002). *Introduction to plant biotechnology* (second ed.). Science publisher.
- Chen, K. T., Su, Y. C., Lin, J. G., Hisn, L. H., Su, Y. P., Su, C. H., Li, S. Y., Cheng, J. H., & Mao, S. J. T. (2001). Identification of *Atractylodes* plants in Chinese herbs and formulation by random amplified polymorphic DNA. *Acta Pharmacologica Sinica*, 22, 493-497.
- Craker, L. E., & Gardner, Z. E. (2006). Medicinal plants and tomorrow's pharmacy an American perspective. In R. J. Bogers, L. E. Craker, and D. Lange (Eds.), *Medicinal and Aromatic Plants* (pp. 29-41). Springer.
- Ding, G., Ding, X. Y., Shen, J., Tang, F., Liu, D. Y., He, J., Li, X. X., & Chu, B. H. (2005). Genetic diversity and molecular authentication of wild populations of *Dendrobium officinale* by RAPD. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 40, 1028-1032.
- Galanis, D., Soultanis, K., Lelovas, P., Zervas, A., Papadopoulos, P., Galanos, A., Argyropoulou, K., Makropoulou, M., Patsaki, A., Passali, C., Tsingotjidou, A., Kourkoulis, S., Mitakou, S., & Dontas, I. (2019). Protective effect of *Glycyrrhiza glabra* roots extract on bone mineral density of ovariectomized rats, *BioMedicine*, 9(2), 8. <https://doi.org/10.1051/bmcdcn/2019090208>
- Garrido-Cardenas, J. A., Mesa-Valle, C. & Manzano-Agugliaro, F. (2018). Trends in plant research using molecular markers, *Planta* 247, 543-557. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2829-y>
- Heubl, G. (2010). New aspects of DNA-based authentication of Chinese medicinal plants by molecular biological techniques. *Planta Medica*, 76, 1963-1974.
- Irshad, S., Singh, J., Kakkar, P., & Mehrotra, S. (2009). Molecular characterization of *Desmodium* species - An important ingredient of 'Dashmoola' by RAPD analysis. *Fitoterapia*, (80), 115-118.
- Kapteyn, J., Goldsbrough, B., and Simon, E. (2002). *Genetic relationships and diversity of commercially relevant Echinacea species*. Theoretical and Applied Genetics 105, 369-376.
- Komatsu, Y. K., Asaka, T., and Ii, I. (2001). A random amplified polymorphic DNA (RAPD) primer to assist the identification of a selected strain, Aizu k-111 of *Panax ginseng* and sequence amplified. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24, 1210-1213.
- Kumar, A., Tripathi, V., and Pushpangadan, P. (2007). Random amplified polymorphic DNA as marker for genetic variation and identification of *Senna surrattensis* and *Senna sulfurea* DC ex Collad. *Current Science*, 93, 1146-1150.
- Lee M. R. (2018). Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): the journey of the sweet root from Mesopotamia to England. *The journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 48(4), 378-382. <https://doi.org/10.4997/JRCPE.2018.419>
- Li, L., Zhu, W., Yang, J., Liu, X., & Dong, Y. (2019). Rapid quantitative analysis of six flavonoids in licorice by ultra-performance convergence chromatography, *Food Science and Technology*, 39(2). <https://doi.org/10.1590/fst.09818>
- Ma, X. Q., Shi, Q., Duan, J. A., Dong, T. T., & Tsim, K. W. (2002). Chemical analysis of *Radix astragali* (Huangqi) in China: a comparison with its adulterants and seasonal variations. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 50, 4861-4866.
- Mehrnia, M., Shahin, Z., & Ashrafoldin, S. S. (2005). Intra-and inter-specific relationships within the *Astragalus microcephalus* complex (Fabaceae) using RAPD. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 149-158.
- Nematzadeh, G. A., & Kiani, G. (2004). *Plant Breeding* (First ed.). Mazandaran University.
- Pastorino, G., Cornara, L., Soares, S., Rodrigues, F., & Oliveira, M. (2018). Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): A phytochemical and pharmacological review. *Phytotherapy research : PTR*, 32(12), 2323-2339. <https://doi.org/10.1002/ptr.6178>
- Qi, J., Li, X., Song, J., Eneji, A. E., & Ma, X. (2008). Genetic relationships among *Rehmannia glutinosa* cultivars and varieties. *Planta Medica*, 74, 1846-1852.
- Rivera-Arce, E., Gattuso, M., Alvarado, R., Zarate, E., Aguero, J., Feria, I., & Lozoya, X. (2007). Pharmacognostical studies of the plant drug *Mimosae tenuiflorae* cortex. *Journal of Ethnopharmacology*, 113, 400-408.
- Saito, K., Murakoshi, I., Yamazaki, M., Sato, A., & Shimomura, K. (1994). Genetic Relationship Among *Glycyrrhiza* Plants Determined By RAPD and RFLP Analyses. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 17(11), 1529-1153.
- Salim, K., Jabeen Mirza, K., Tayaab, M., & Zainul Abidin, M. (2009). RAPD Profile for Authentication of Medicinal Plant *Glycyrrhiza glabra* Linn. *Internet Journal of Food Safety*, 11, 24-28.
- Shakti, M., Khwaja, O., Kukreja, A. K., & Rahman, L. (2012). ISSR and RAPD based Evaluation of Genetic Stabiliti of Encapsulated Micro Shoots of *Glycyrrhiza glabra* Following 6 months of storage. *Molecular Biotechnology*, 52, 262-268.
- Fu, S., Cheng, J., Wei, C., Yang, L., Xiao, X., Zhang, D., Stewart, M. D., & Fu, J. (2017). Development of diagnostic SCAR markers for genomic DNA amplifications in breast carcinoma by DNA cloning of high-GC RAMP-PCR fragments. *Oncotarget*, 8(27), 43866-43877. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16704>
- Sultan, P., Shawl, A. S., Rehman, S., Fayaz Ahmed, S., & Ramteke, P. W. (2010). Molecular characterization and marker based chemotaxonomic studies

- of *Podophyllum hexandrum* Royle. *Fitoterapia*, 81, 243-247.
- Winnepenninckx, B., Backeljau, T., & De Wachter, R. (1993). Extraction of high molecular weight DNA from molluscs. *Trends Genetics*, 9(12), 407.
- Yadav, P., Koul, K. K., Shrivastava, N., Mendaki, M. J. & Bhagyawant, S. S. (2015). DNA polymorphisms in chickpea accessions as revealed by PCR-based markers, *Cellular & Molecular Biology*, 61(5), 84-90.
- Yamazaki, M., Sato, A., Shimomura, K., Inoue, K., Ebizuka, Y., Murakoshi, I., & Saito, K. (1995). Extraction of DNA and RAPD analysis from dried licorice root. *Nature Medicine*, 49, 488-490.
- Yamazaki, M., Sato, A., Shimomura, K., Saito, K., & Murakoshi, I. (1994). Genetic Relationship Among *Glycyrrhiza* Plants Determined By RAPD and RFLP Analyses. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 17(11), 1529-1531.

Исследование генетической изменчивости лакричника (*Glycyrrhiza glabra*) в Иране с помощью молекулярных ДНК-маркеров (RAPD)

Ахангаран Махбубух¹, Гаравири Махмуд¹, Масумян Маджид¹

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Корреспонденция, касающаяся этой статьи, должна быть адресована Ахангаран Махбубух, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», адрес: 125080, город Москва, Волоколамское шоссе, дом 11. E-mail: ahangaran@hotmailcom

Тридцать экотипов лакричник (лекарственного растения) со всего Ирана Было собрано и генетически оценено. Для оценки генетического разнообразия *Glycyrrhiza glabra* геномную ДНК экстрагировали методом Winperenninckx (метод СТАВ). Для проведения ПЦР использовали 12 случайных праймеров. Все 12 праймеров показали очевидные и повторяющиеся полосы. В целом, Произведено 1343 полоса. Размеры полос варьируются от 250 до 5000 п.н. Процент полиморфизма и полиморфных локусов составил 83,88% и 95,5% соответственно. Наибольшее количество полос было связано с праймером OPN-08 (полоса 188). Наибольшее сходство между экотипами Эсфарайен и Боджнурд составляет 0,647. Экотипы Керманшаха и Орумие имели наименьшее сходство 0.3. Дендрограмма разделила 30 экотипов на 5 групп с точки зрения генетической дистанции. В общем-то, Изучение вариаций генотипов лакричник (*Glycyrrhiza glabra*) с использованием маркера RAPD показало, что этот маркер может быть полезен для идентификации полиморфизма, оценки генетического расстояния и управления зародышевой плазмой.

Ключевые слова: *Glycyrrhiza glabra*, генетическое разнообразие, генетические отношения, UPGMA, молекулярные маркеры, RAPD

Литература

- Adiguzel, A., Agar, G., Baris, O., Medine, G., Fikrettin, S. & Meryem, S. (2006). RAPD and FAME analyses of *Astragalus* species growing in eastern Anatolia region of Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, 424-432.
- Arzani, A., & Mortazavi, A. (2002). *Principles of Genetic Analysis* (Sixth ed. Vol. Second). Print University of Esfahan.
- Backouchi, I. Z., Aouida, M., Khemiri, N., & Jebara, M. (2015). Genetic diversity in Tunisian populations of faba bean (*Vicia faba* L.) based on morphological traits and molecular markers. *Genetics and molecular research : GMR*, 14(3), 7587-7596. <https://doi.org/10.4238/2015.July.13.2>
- Belarmino, K. S., Rêgo, M. M., Bruno, R. L. A., Medeiros, J. D. A., Andrade, A. P., & Rêgo, E. R. (2017). Genetic diversity in a *Poincianella pyramidalis* (Tul) L.P. Queiroz population assessed by RAPD molecular markers. *Genetics and Molecular Research*, 16(3), gmr16039663. <https://doi.org/10.4238/gmr16039663>
- Chawla, H. S. (2002). *Introduction to plant biotechnology* (second ed.). Science publisher.
- Chen, K. T., Su, Y. C., Lin, J. G., Hisn, L. H., Su, Y. P., Su, C. H., Li, S. Y., Cheng, J. H., & Mao, S. J. T. (2001). Identification of *Atractylodes* plants in Chinese herbs and formulation by random amplified polymorphic DNA. *Acta Pharmacologica Sinica*, 22, 493-497.
- Craker, L. E., & Gardner, Z. E. (2006). Medicinal plants and tomorrow's pharmacy an American perspective. In R. J. Bogers, L. E. Craker, and D. Lange (Eds.), *Medicinal and Aromatic Plants* (pp. 29-41). Springer.
- Ding, G., Ding, X. Y., Shen, J., Tang, F., Liu, D. Y., He, J., Li, X. X., & Chu, B. H. (2005). Genetic diversity and molecular authentication of wild populations of *Dendrobium officinale* by RAPD. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 40, 1028-1032.
- Galanis, D., Soultanis, K., Lelovas, P., Zervas, A., Papadopoulos, P., Galanos, A., Argyropoulou, K., Makropoulou, M., Patsaki, A., Passali, C., Tsingotjidou, A., Kourkoulis, S., Mitakou, S., & Dontas, I. (2019). Protective effect of *Glycyrrhiza glabra* roots extract on bone mineral density of ovariectomized rats, *BioMedicine*, 9(2), 8. <https://doi.org/10.1051/bmdcn/2019090208>

- Garrido-Cardenas, J. A., Mesa-Valle, C. & Manzano-Agugliaro, F. (2018). Trends in plant research using molecular markers, *Planta* 247, 543–557. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2829-y>
- Heubl, G. (2010). New aspects of DNA-based authentication of Chinese medicinal plants by molecular biological techniques. *Planta Medica*, 76, 1963–1974.
- Irshad, S., Singh, J., Kakkar, P., & Mehrotra, S. (2009). Molecular characterization of Desmodium species - An important ingredient of 'Dashmoola' by RAPD analysis. *Fitoterapia*, (80), 115–118.
- Kapteyn, J., Goldsbrough, B., and Simon, E. (2002). Genetic relationships and diversity of commercially relevant Echinacea species. Theoretical and Applied Genetics 105, 369–376.
- Komatsu, Y. K., Asaka, T., and Ii, I. (2001). A random amplified polymorphic DNA (RAPD) primer to assist the identification of a selected strain, Aizu k-111 of Panax ginseng and sequence amplified. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24, 1210–1213.
- Kumar, A., Tripathi, V., and Pushpangadan, P. (2007). Random amplified polymorphic DNA as marker for genetic variation and identification of Senna surrattensis and Senna sulfurea DC ex Collad. *Current Science*, 93, 1146–1150.
- Lee M. R. (2018). Liquorice (Glycyrrhiza glabra): the journey of the sweet root from Mesopotamia to England. *The journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 48(4), 378–382. <https://doi.org/10.4997/JRCPE.2018.419>
- Li, L., Zhu, W., Yang, J., Liu, X., & Dong, Y. (2019). Rapid quantitative analysis of six flavonoids in licorice by ultra-performance convergence chromatography, *Food Science and Technology*, 39(2). <https://doi.org/10.1590/fst.09818>
- Ma, X. Q., Shi, Q., Duan, J. A., Dong, T. T., & Tsim, K. W. (2002). Chemical analysis of Radix astragali (Huangqi) in China: a comparison with its adulterants and seasonal variations. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 50, 4861–4866.
- Mehrnia, M., Shahin, Z., & Ashrafoldin, S. S. (2005). Intra-and inter-specic relationships within the Astragalus microcephalus complex (Fabaceae) using RAPD. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 149–158.
- Nematzadeh, G. A., & Kiani, G. (2004). *Plant Breeding* (First ed.). Mazandaran University.
- Pastorino, G., Cornara, L., Soares, S., Rodrigues, F., & Oliveira, M. (2018). Liquorice (Glycyrrhiza glabra): A phytochemical and pharmacological review. *Phytotherapy research : PTR*, 32(12), 2323–2339. <https://doi.org/10.1002/ptr.6178>
- Qi, J., Li, X., Song, J., Eneji, A. E., & Ma, X. (2008). Genetic relationships among Rehmannia glutinosa cultivars and varieties. *Planta Medica*, 74, 1846–1852.
- Rivera-Arce, E., Gattuso, M., Alvarado, R., Zarate, E., Aguero, J., Feria, I., & Lozoya, X. (2007). Pharmacognostical studies of the plant drug Mimosae tenuiflorae cortex. *Journal of Ethnopharmacology*, 113, 400–408.
- Saito, K., Murakoshi, I., Yamazaki, M., Sato, A., & Shimomura, K. (1994). Genetic Relationship Among Glycyrrhiza Plants Determined By RAPD and RFLP Analyses. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 17(11), 1529–1531.
- Salim, K., Jabeen Mirza, K., Tayaab, M., & Zainul Abidin, M. (2009). RAPD Profile for Authentication of Medicinal Plant Glycyrrhiza glabra Linn. *Internet Journal of Food Safety*, 11, 24–28.
- Shakti, M., Khwaja, O., Kukreja, A. K., & Rahman, L. (2012). ISSR and RAPD based Evaluation of Genetic Stabiliti of Encapsulated Micro Shoots of Glycyrrhiza glabra Following 6 months of storage. *Molecular Biotechnology*, 52, 262–268.
- Fu, S., Cheng, J., Wei, C., Yang, L., Xiao, X., Zhang, D., Stewart, M. D., & Fu, J. (2017). Development of diagnostic SCAR markers for genomic DNA amplifications in breast carcinoma by DNA cloning of high-GC RAMP-PCR fragments. *Oncotarget*, 8(27), 43866–43877. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16704>
- Sultan, P., Shawl, A. S., Rehman, S., Fayaz Ahmed, S., & Ramteke, P. W. (2010). Molecular characterization and marker based chemotaxonomic studies of Podophyllum hexandrum Royle. *Fitoterapia*, 81, 243–247.
- Winneppenninckx, B., Backeljau, T., & De Wachter, R. (1993). Extraction of high molecular weight DNA from molluscs. *Trends Genetics*, 9(12), 407.
- Yadav, P., Koul, K. K., Shrivastava, N., Mendaki, M. J. & Bhagyawant, S. S. (2015). DNA polymorphisms in chickpea accessions as revealed by PCR-based markers, *Cellular & Molecular Biology*, 61(5), 84–90.
- Yamazaki, M., Sato, A., Shimomura, K., Inoue, K., Ebizuka, Y., Murakoshi, I., & Saito, K. (1995). Extraction of DNA and RAPD analysis from dried licorice root. *Nature Medicine*, 49, 488–490.
- Yamazaki, M., Sato, A., Shimomura, K., Saito, K., & Murakoshi, I. (1994). Genetic Relationship Among Glycyrrhiza Plants Determined By RAPD and RFLP Analyses. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 17(11), 1529–1531.