

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ВОПРОСЫ ПИТАНИЯ

VOPROSY PITANIYA
(PROBLEMS OF NUTRITION)

Основан в 1932 г.

ТОМ 86

№ 5, 2017

Журнал входит в Перечень российских рецензируемых научных журналов, которые рекомендованы Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации (ВАК) для публикации результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук

Журнал представлен в следующих информационно-справочных изданиях и библиографических базах данных: Реферативный журнал ВИНТИ, Pubmed, Biological, MedART, eLibrary.ru, The National Agricultural Library (NAL), Nutrition and Food Database, FSTA, EBSCOhost, Health Index, Scopus, Web of Knowledge, Social Sciences Citation Index, Russian Periodical Catalog



ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»

Тутельян Виктор Александрович (г. Москва)
главный редактор, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией энзимологии питания, научный руководитель ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Ханферьян Роман Авакович (г. Москва)
заместитель главного редактора, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией иммунологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Вржесинская Оксана Александровна (г. Москва)
ответственный секретарь редакции, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории витаминов и минеральных веществ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Арчаков Александр Иванович (г. Москва)
академик РАН, научный руководитель ФГБУН «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»

Батурич Александр Константинович (г. Москва)
доктор медицинских наук, профессор, руководитель направления «Оптимальное питание» ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Бойцов Сергей Анатольевич (г. Москва)
член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России

Валента Рудольф (Австрия)
профессор, руководитель Департамента иммунопатологии, кафедра патофизиологии и аллергии Медицинского университета г. Вены

Видаль Сесилио (Испания)
профессор, руководитель департамента биохимии Университета г. Мурсии

Гаппаров Минкаил Магомед Гаджиевич (г. Москва)
член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории клинической биохимии, иммунологии и аллергологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Георгиев Павел Георгиевич (г. Москва)
академик РАН, доктор биологических наук, профессор, директор ФГБУН «Институт биологии гена» РАН

Голухова Елена Зеликовна (г. Москва)
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением неинвазивной аритмологии и хирургического лечения комбинированной патологии Института кардиохирургии им. В.И. Бураковского ФГБУ «Национальный научно-практический центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Минздрава России

Григорьев Анатолий Иванович (г. Москва)
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, вице-президент РАН

Дил Фридрихельм (ФРГ)
профессор, директор Института охраны окружающей среды и здоровья г. Фюльда

Зайцева Нина Владимировна (г. Пермь)
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора

Исаков Василий Андреевич (г. Москва)
доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением гастроэнтерологии и гепатологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Кочеткова Алла Алексеевна (г. Москва)
доктор технических наук, профессор, заведующая лабораторией пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Лисицын Андрей Борисович (г. Москва)
академик РАН, доктор технических наук, профессор, директор ФГБУН «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности им. В.М. Горбатова»

Медведева Ирина Васильевна (г. Тюмень)
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, ректор ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России

Нареш Маган (Великобритания)
профессор факультета изучения окружающей среды и технологии Кренфильдского университета (г. Лондон)

Никитюк Дмитрий Борисович (г. Москва)
член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией спортивной антропологии и нутрициологии, директор ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Онищенко Геннадий Григорьевич (г. Москва)
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

Попова Анна Юрьевна (г. Москва)
доктор медицинских наук, профессор, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Попова Тамара Сергеевна (г. Москва)
доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией экспериментальной патологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» Департамента здравоохранения г. Москвы

Савенкова Татьяна Валентиновна (г. Москва)
доктор технических наук, профессор, директор ФГБУН «Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности»

Суханов Борис Петрович (г. Москва)
доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры гигиены питания и токсикологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Хотимченко Сергей Анатольевич (г. Москва)
доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий, врио первого заместителя директора по научной работе ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Бакиров А.Б. (Уфа, Россия)
Бессонов В.В. (Москва, Россия)
Боровик Т.Э. (Москва, Россия)
Бранка Ф. (Швейцария, ВОЗ)
Быков И.М. (Краснодар, Россия)
Васильев А.В. (Москва, Россия)
Доценко В.А. (Санкт-Петербург, Россия)
Застенская И.А. (Германия)
Коденцова В.М. (Москва, Россия)
Конь И.Я. (Москва, Россия)
Корешков В.Н. (Москва, Россия)
Кузьмин С.В. (Екатеринбург, Россия)
Мазо В.К. (Москва, Россия)
Макаров В.Н. (Мичуринск, Россия)

Маскелюнас И. (Литва)
Погожева А.В. (Москва, Россия)
Проданчук Н.Г. (Украина)
Скрябин К.Г. (Москва, Россия)
Спиричев В.Б. (Москва, Россия)
Сычик С.И. (Республика Беларусь)
Хенсел А. (Германия)
Шабров А.В. (Санкт-Петербург, Россия)
Шарафетдинов Х.Х. (Москва, Россия)
Шарманов Ш. (Казахстан)
Шевелева С.А. (Москва, Россия)
Шевырева М.П. (Москва, Россия)
Эллер К.И. (Москва, Россия)

Научно-практический журнал «Вопросы питания» № 5, 2017

Выходит 6 раз в год.
Основа в 1932 г.

Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № 77–14119 от 11.12.2002.

Все права защищены.

Никакая часть издания не может быть воспроизведена без согласия редакции.

При перепечатке публикаций с согласия редакции ссылка на журнал «Вопросы питания» обязательна.

Ответственность за содержание рекламных материалов несут рекламодатели.

Адрес редакции

109240, г. Москва,
Устьинский проезд, д. 2/14,
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»,
редакция журнала «Вопросы питания»
Телефон: (495) 698-53-60, 698-53-46
Факс: (495) 698-53-79

Научный редактор

Вржесинская Оксана Александровна:
(495) 698-53-30, red@ion.ru

Подписные индексы

(каталог агентства «Роспечать»):
71422 – для индивидуальных подписчиков,
71423 – для организаций и предприятий

Сайт журнала: <http://vp.geotar.ru>

Издатель

ООО Издательская группа
«ГЭОТАР-Медиа»
115035, г. Москва,
ул. Садовническая, д. 9, стр. 4
Телефон: (495) 921-39-07
www.geotar.ru

Выпускающий редактор:
Красникова Ольга, krasnikova@geotar.ru

Корректор: Макеева Елена

Верстка: Килимник Арина

Отдел подписки:
Хабибулина Зульфия, habibulina@geotar.ru

Тираж 3000 экземпляров.
Формат 60x90 1/8.
Печать офсетная. Печ. л. 12,5.

Отпечатано
в АО «Первая Образцовая типография».
Филиал «Чеховский Печатный Двор».
142300, Московская область, г. Чехов,
ул. Полиграфистов, д. 1.
Заказ №

© ООО Издательская группа
«ГЭОТАР-Медиа», 2017

**Scientific and practical journal
«Problems of Nutrition» N 5, 2017**

6 times a year.
Founded in 1932.

The mass media registration
certificate PI N 77-14119
from 11.12.2002.

All rights reserved.

No part of the publication
can be reproduced without
the written consent of editorial office.

Any reprint of publications with consent
of editorial office should obligatory contain
the reference to the "Problems of Nutrition"
provided the work is properly cited.

The content
of the advertisements is the
advertiser's responsibility.

Address of the editorial office

109240, Moscow, Ust'inskiy driveway, 2/14,
Federal Research Centre of Nutrition,
Biotechnology and Food Safety,
editorial office of the "Problems of Nutrition"
Phone: (495) 698-53-60, 698-53-46
Fax: (495) 698-53-79

Science editor

Vrzhinskaya O.A.:
(495) 698-53-30, red@ion.ru

Subscription index

(in catalogue of "Rospechat"):
71422 – for individual underwriters,
71423 – for companies and organizations

The journal's website: <http://vp.geotar.ru>

Publisher

GEOTAR-Media Publishing Group
Sadovnicheskaya st.,
9/4, Moscow
115035, Russia
Phone: (495) 921-39-07
www.geotar.ru

Desk editor:

Krasnikova Olga, krasnikova@geotar.ru

Proofreader: Makeeva E.I.

Layout: Kilimnik A.I.

Subscriptions Department:

Khabibulina Zul'fiya, khabibulina@geotar.ru

Circulation of 3000 copies.

Format 60x90 1/8.
Offset printing. 12,5.

Chekhovian

Printing Yard branch of JSC First.
Model Printing House of Mon-Fri.
142300, Moscow Region, Chekhov,
Poligrafistov St., 1.
Order N

© GEOTAR-Media Publishing Group,
2017

Viktor A. Tutelyan (Moscow, Russia)

Editor-in-Chief, Academician of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Scientific supervisor of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Roman A. Khanferyan (Moscow, Russia)

Deputy Editor-in-Chief, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Immunology of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Oksana A. Vrzhinskaya (Moscow, Russia)

Executive Secretary of the Editorial Office, PhD, Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher of the Laboratory of Vitamins and Minerals of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Aleksander I. Archakov (Moscow, Russia)

Academician of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Scientific director of Institute of Biomedical Chemistry named after V.N. Orekhovich

Aleksander K. Baturin (Moscow, Russia)

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department "Optimal Nutrition" of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Sergey A. Boytsov (Moscow, Russia)

Doctor of Medical Sciences, Professor, General director of National Medical Research Center of Cardiology, Corresponding member of the Russian Academy of Sciences

Rudolf Valenta (Vienna, Austria)

Professor, Head of the Laboratory for Allergy Research of Division of Immunopathology at the Dept. of Pathophysiology and Allergy Research at the Center for Pathophysiology, Infectology and Immunology of Medical University of Vienna

Cecilio Vidal (Murcia, Spain)

Professor, Head of the Department of Biochemistry of University of Murcia

Mikhail M.G. Gapparov (Moscow, Russia)

Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding member of Russian Academy of Sciences, Chief Researcher of the Laboratory of Clinical Biochemistry, Immunology and Allergology of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Pavel G. Georgiev (Moscow, Russia)

Academician of Russian Academy of Sciences, Doctor of Biological Sciences, Professor, Director of Institute of Gene Biology of Russian Academy of Sciences

Elena Z. Golukhova (Moscow, Russia)

Academician of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Non-Invasive Arrhythmology and Surgical Treatment of Combined Pathology at the V.I. Burakovskiy Institute of Cardiac Surgery of A.N. Bakulev Scientific Center of Cardiovascular Surgery

Anatoliy I. Grigoriev (Moscow, Russia)

Academician of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Vice-President of the Russian Academy of Sciences

Diel Friedhelm (Fulda, Germany)

Professor, Director of Institute for Environment and Health

Nina V. Zaitseva (Perm', Russia)

Academician of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Director of Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies

Vasily A. Isakov (Moscow, Russia)

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Gastroenterology and Hepatology of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Alla A. Kochetkova (Moscow, Russia)

Doctor of Technical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Food Biotechnology and Specialized Preventive Products of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Andrey B. Lisitsyn (Moscow, Russia)

Academician of Russian Academy of Sciences, Doctor of Technical Sciences, Professor, Director of the V.M. Gorbatoev's All-Russian Meat Research Institute

Irina V. Medvedeva (Tyumen, Russia)

Academician of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Rector of Tyumen State Medical University

Magan Naresh (London, United Kingdom)

Professor of Applied Mycology Cranfield Soil and Agrifood Institute

Dmitry B. Nikityuk (Moscow, Russia)

Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Sport Anthropology and Nutrition, Director of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Gennady G. Onishchenko (Moscow, Russia)

Academician of Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor

Anna Yu. Popova (Moscow, Russia)

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing

Tamara S. Popova (Moscow, Russia)

Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Experimental Pathology of the N.V. Sklifosovskiy's Research Institute of Emergency Medicine

Tatiana V. Savenkova (Moscow, Russia)

Doctor of Technical Sciences, Professor, Director of All-Russian Scientific Research Institute of the Confectionery Industry

Boris P. Sukhanov (Moscow, Russia)

Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Food Hygiene and Toxicology at the I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

Sergey A. Khotimchenko (Moscow, Russia)

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Food Toxicology and Safety Assessments of Nanotechnology, a.i. Director of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

EDITORIAL COUNCIL

Bakirov A.B. (Ufa, Russia)

Bessonov V.V. (Moscow, Russia)

Borovik T.E. (Moscow, Russia)

Branca F. (Switzerland, WHO)

Bykov I.M. (Krasnodar, Russia)

Vasil'ev A.V. (Moscow, Russia)

Dotsenko V.A. (St. Petersburg, Russia)

Zastenskaya I. (Germany)

Kodentsova V.M. (Moscow, Russia)

Kon I.Ya. (Moscow, Russia)

Koreshkov V.N. (Moscow, Russia)

Kuzmin S.V. (Ekaterinburg, Russia)

Mazo V.K. (Moscow, Russia)

Makarov V.N. (Michurinsk, Russia)

Maskelyunas I. (Lithuania)

Pogozheva A.V. (Moscow, Russia)

Prodanchuk N.G. (Kiev, Ukraine)

Scryabin K.G. (Moscow, Russia)

Sharmanov T.S. (Alma-Ata, Kazakhstan)

Sychik S.I. (Minsk, Belarus')

Hensel A. (Germany)

Spirichev V.B. (Moscow, Russia)

Shabrov A.V. (St. Petersburg, Russia)

Sharafetdinov Kh.Kh. (Moscow, Russia)

Sheveleva S.A. (Moscow, Russia)

Shevyreva M.P. (Moscow, Russia)

Eller C.I. (Moscow, Russia)

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ

Выборная К.В., Соколов А.И., Кобелькова И.В., Лавриненко С.В., Клочкова С.В., Никитюк Д.Б.

Основной обмен как интегральный количественный показатель интенсивности метаболизма

ГИГИЕНА ПИТАНИЯ

Батурин А.К., Погожева А.В., Кешабянц Э.Э., Старовойтов М.Л., Кобелькова И.В., Камбаров А.О.

Изучение питания, антропометрических показателей и состава тела у коренного и пришлого населения российской Арктики

Кобелькова И.В., Мартинчик А.Н., Кудрявцева К.В., Батурин А.К.

Режим питания в сохранении здоровья работающего населения

СПОРТИВНОЕ ПИТАНИЕ

Гаврилова Н.Б., Щетинин М.П., Чернопольская Н.Л.

Научно-экспериментальное обоснование рецептуры специализированного продукта для питания спортсменов, обогащенного пробиотическими микроорганизмами

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Тышко Н.В.

Контроль за генно-инженерно-модифицированными организмами растительного происхождения в пищевой продукции: научное обоснование и методическое обеспечение

Ефимочкина Н.Р., Пичугина Т.В., Стеценко В.В., Быкова И.Б., Маркова Ю.М., Короткевич Ю.В., Полянина А.С., Шевелева С.А.

Оптимизация методов контроля пищевых продуктов на основе создания дифференциально-диагностических сред для выделения и культивирования бактерий рода *Campylobacter*

Анциферова А.А., Демин В.А., Демин В.Ф., Соловьев В.Ю.

Ядерно-активационные аналитические методы и рентгенофлуоресцентный анализ в применении к определению токсичных элементов и микроэлементов в пищевых продуктах и характеристике биокинетики наночастиц

Боклов Д.О., Хромченкова Е.П., Сокуренок М.С., Васильев А.В., Бессонов В.В.

Разработка методики определения инулина в цикории растворимом натуральном после ферментативного гидролиза методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Зайцева Н.В., Уланова Т.С., Нурисламова Т.В., Терентьев Г.И., Попова Н.А., Мальцева О.А.

Определение N-нитрозодифениламина в детских мясных консервах методом хромато-масс-спектрометрии

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Римарева Л.В., Серба Е.М., Соколова Е.Н., Борщева Ю.А., Игнатова Н.И.

Ферментные препараты и биокаталитические процессы в пищевой промышленности

Пономарева Е.И., Попов В.И., Есауленко И.Э., Лукина С.И., Алехина Н.Н.

Пряничные изделия повышенной пищевой ценности с нетрадиционными видами сырья

Клабукова Д.Л., Колотвина С.В., Титов Е.И., Машентцева Н.Г.

Изучение влияния композиции стартовых культур на уровень холестерина в ферментированных мясных продуктах

ДЕТСКОЕ ПИТАНИЕ

Скидан И.Н., Пырьева Е.А., Конь И.Я.

Развитие индустрии смесей заменителей грудного молока

PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY NUTRITION

5 **Vybornaya K.V., Sokolov A.I., Kobelkova I.V., Lavrinenko S.V., Klochkova S.V., Nikityuk D.B.** 5

Basal metabolic rate as an integral indicator of metabolism intensity

HYGIENE OF NUTRITION

11 **Baturin A.K., Pogozeva A.V., Keshabyants E.E., Starovoytov M.L., Kobelkova I.V., Kambarov A.O.** 11

The study of nutrition, anthropometric testes and body composition among native and alien population of Russian Arctic

17 **Kobelkova I.V., Martinchik A.N., Kudryavtseva K.V., Baturin A.K.** 17

Diet pattern and health of working people

NUTRITION OF SPORTSMEN

22 **Gavrilova N.B., Schetinin M.P., Chernopolskaya N.L.** 22

Experimental and scientific formulation development of a specialized (sport) product, enriched with probiotic microorganisms

CONTROL OF FOOD QUALITY AND SAFETY

29 **Tyshko N.V.** 29

Control over genetically-modified sources of plant origin in food: scientific basis and methodical maintenance

34 **Efimochkina N.R., Pichugina T.V., Stetsenko V.V., Bykova I.B., Markova Yu.M., Korotkevich Yu.V., Polyamina A.S., Sheveleva S.A.** 34

Optimization of microbiological methods for food control based on the differential-diagnostic media for the isolation and cultivation of bacteria of the genus *Campylobacter*

42 **Antsiverova A.A., Demin V.A., Demin V.F., Soloviev V.Yu.** 42

Nuclear activation analytical methods and X-ray fluorescence analysis in application to determination of pollutants and trace elements in food and for studying biokinetics of nanoparticles

50 **Bokov D.O., Khromchenkova E.P., Sokurenko M.S., Vasilev A.V., Bessonov V.V.** 50

Development of a technique for the determination of inulin in natural instant chicory after enzymatic hydrolysis by high-performance liquid chromatography

56 **Zaytseva N.V., Ulanova T.S., Nurislamova T.V., Terentiev G.I., Popova N.A., Maltseva O.A.** 56

Determination of N-nitrosodiphenylamine in meat canned food for children by the method of chromato-mass-spectrometry

CHEMICAL COMPOSITION OF FOODSTUFFS

63 **Rimareva L.V., Serba E.M., Sokolova E.N., Borshcheva Yu.A., Ignatova N.I.** 63

Enzyme preparations and biocatalytic processes in the food industry

75 **Ponomareva E.I., Popov V.I., Esausenko I.E., Lukina S.I., Alekhina N.N.** 75

Gingerbreads of enhanced nutritional value with the non-traditional raw materials

82 **Klabukova D.L., Kolotvina S.V., Titov E.I., Mashentseva N.G.** 82

The study of starter cultures compositions influence on the cholesterol level in fermented meat products

CHILD NUTRITION

91 **Skidan I.N., Pyrieva E.A., Kon' I.Ya.** 91

Development of the infant formula industry

Для корреспонденции

Выборная Ксения Валерьевна – научный сотрудник
лаборатории спортивной антропологии и нутрициологии
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»
Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
Телефон: (495) 698-53-26
E-mail: dombim@mail.ru

Выборная К.В.¹, Соколов А.И.¹, Кобелькова И.В.¹, Лавриненко С.В.¹, Клочкова С.В.²,
Никитюк Д.Б.¹

Основной обмен как интегральный количественный показатель интенсивности метаболизма

Basal metabolic rate
as an integral indicator
of metabolism intensity

Vybornaya K.V.¹, Sokolov A.I.¹,
Kobelkova I.V.¹, Lavrinenko S.V.¹,
Klochkova S.V.², Nikityuk D.B.¹

¹ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва
² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России
¹ Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow
² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

Величина основного обмена (ВОО) имеет большое значение при оценке суточных энергетических потребностей и уровня физической активности человека. В статье рассматриваются факторы, влияющие на ВОО. Скорость основного обмена зависит от массы тела, роста, возраста и пола. Уравнения прогноза, полученные на основе этих показателей, покрывают около 70% вариабельности ВОО. Однако эти уравнения не учитывают влияния состава тела. ВОО тесно связана с тощей массой тела. Среди показателей состава тела тощая масса является наиболее сильным предиктором ВОО. Уравнения прогноза на основе тощей массы тела покрывают те же 70% вариабельности, что определяется возрастными и половыми различиями. В статье также обсуждается роль физической активности и характера питания как факторов, влияющих на ВОО. Сделан вывод о том, что тощая масса тела является наиболее сильным предиктором ВОО. Вариабельность жировой массы тела также может влиять на изменение величины основного обмена. К влияющим на ВОО факторам можно отнести питание и уровень физической активности.

Ключевые слова: величина основного обмена, энергетические потребности, состав тела, физическая активность, факторы питания, уравнения прогноза основного обмена веществ

The basal metabolism rate (BMR) is of great importance in the assessment of daily energy requirements and physical activity level of a person. Article reviews the factors influencing the BMR. The BMR significantly correlates with weight, height, age, sex. Prediction equations based on these factors account for approximately 70% of the

Для цитирования: Выборная К.В., Соколов А.И., Кобелькова И.В., Лавриненко С.В., Клочкова С.В., Никитюк Д.Б. Основной обмен как интегральный количественный показатель интенсивности метаболизма // Вопр. питания. 2017. Т. 86. № 5. С. 5–10.

Статья поступила в редакцию 11.04.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Vybornaya K.V., Sokolov A.I., Kobelkova I.V., Lavrinenko S.V., Klochkova S.V., Nikityuk D.B. Basal metabolic rate as an integral indicator of metabolism intensity. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2017; 86 (5): 5–10. (in Russian)

Received 11.04.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

variability of the basal metabolism. However, these equations do not take into account the effect of body composition. The BMR is associated with lean body mass. Among body composition indicators lean body mass is the strongest determinant of BMR. The rate of basal metabolism, predicted on the basis of the relationship with the lean body mass covers the same 70% of the variability that are determined by gender and age differences, as most of the variability due to gender and age differences. In addition, the role of physical activity and nutrition as factors that affect the value of the BMR is discussed. The conclusion is made that lean body mass is the strongest predictor of BMR. Body fat mass also affects the basal metabolic rate as well as physical activity level and nutrition.

Keywords: basal metabolic rate, energy needs, body composition, physical activity, dietary factors, prediction of basal metabolic rate

Энергопотребности, энергопотребление и энерготраты являются основными показателями энергообмена. Эти компоненты взаимосвязаны, взаимозависимы и являются макропараметрами энергетического обмена. В структуре энерготрат обычно выделяют составляющие компоненты: основной или базальный обмен, пищевой термогенез и затраты энергии, связанные с физической активностью [1].

Основной обмен обусловлен энергетическим обеспечением функционирования жизненно необходимых органов в условиях полного физического и психического покоя. Величина основного обмена [ВОО, basal metabolic rate (BMR)] является одним из наиболее значимых компонентов суммарных энерготрат организма. Его доля может достигать до 80–90% относительно суточных энерготрат [2]. ВОО является конституциональной характеристикой интенсивности метаболизма и часто используется как самостоятельная единица при определении энерготрат трудовой деятельности. В связи с этим изучение причин и механизмов индивидуальной вариабельности основного обмена имеет первостепенное значение при разработке персонализированных рационов. Поиску основных предикторов уровня базального обмена посвящено много исследований, накоплено немало результатов, однако до сих пор данная проблема остается актуальной [3].

Наиболее часто используемые уравнения расчета (прогноза) ВОО (BMR) учитывают только возраст, пол и основные антропометрические показатели – рост и массу тела [4–6]:

1. Оригинальное уравнение Harris–Benedict:

$$\text{BMR мужчин: ккал/сут} = (13,7516 \times \text{MT}) + (5,0033 \times \text{P}) - (6,7550 \times \text{B}) + 66,4730;$$

$$\text{BMR женщин: ккал/сут} = (9,5634 \times \text{MT}) + (1,8496 \times \text{P}) - (4,6756 \times \text{B}) + 655,0955,$$

где MT – масса тела, кг; P – рост, см; B – возраст (годы).

2. Уточненное уравнение Harris–Benedict:

$$\text{BMR мужчин: ккал/сут} = (13,397 \times \text{MT}) + (4,799 \times \text{P}) - (5,677 \times \text{B}) + 88,362;$$

$$\begin{aligned} \text{BMR женщин: ккал/сут} = \\ (9,247 \times \text{MT}) + (3,098 \times \text{P}) - (4,330 \times \text{B}) + 447,593. \end{aligned}$$

3. Уравнение обмена покоя Mifflin–St. Jeor:

$$\begin{aligned} \text{BMR ккал/сут} = \\ (9,99 \times \text{MT}) + (6,25 \times \text{P}) - (4,92 \times \text{B}) + s, \end{aligned}$$

где s=5 для мужчин и s=161 для женщин.

Однако заключение, что эти 4 параметра (пол, возраст, рост и масса тела) определяют ВОО, было оправданно на тот период, когда для анализа были широко доступны только данные антропометрических исследований. При этом расчетные ВОО могут покрывать около 75% вариабельности основного обмена.

Основным недостатком уравнений прогноза, в которых использованы росто-весовые показатели, было то, что они совсем не учитывали состав тела, хотя именно метаболически активные ткани, причем мышечная является основной, определяют интенсивность метаболизма и энергетические потребности организма [8].

Благодаря возможностям использования биоимпедансометрии для масштабных исследований было определено, что из показателей состава тела наиболее сильным предиктором ВОО является тощая масса тела [9]. Корреляционные исследования основного обмена выявили, что гендерные, возрастные и росто-массовые различия большей частью обусловлены именно содержанием тощей массы тела [10–14]:

1. Уравнение Katch–McArdle:

$$\text{BMR (ккал/сут)} = 21,6 \times \text{TM} + 370,$$

где TM – тощая масса (тела), кг.

2. Уравнение Cunningham:

$$\text{BMR (ккал/сут)} = 484,264 + 22,771 \times \text{TM}.$$

Эти уравнения позволяют точнее определить ВОО для лиц с выраженной мышечной массой, например для атлетов.

Только один этот показатель покрывает те же 75% индивидуальной вариабельности, которую ранее учитывали уравнения прогноза на основе 4 влияющих факторов (пол, возраст, рос, масса тела).

Таким образом, удельная ВОО в пересчете на 1 кг тощей массы тела оказалась наиболее универсальным показателем скорости основного обмена. Для взрослых мужчин и женщин, различающихся массой тела, ростом, возрастом, а также содержанием тощей и жировой массы тела, она была одинаковой [15]. Каждый килограмм прироста тощей массы тела увеличивает базальный обмен на 22–23 ккал. Влияние жировой массы тела на интенсивность основного обмена тоже имеется, но оно существенно ниже – около 5%.

При учете влияния состава тела все равно остается почти 25% колебаний основного обмена, причины которого не выявлены и не находят убедительного объяснения. Среди наиболее вероятных предположений, возможно, задействованы такие факторы регуляции энергетического обмена, как генетические, гормональные, связанные с индивидуальными особенностями метаболизма, циркадные ритмы и др. В данной работе мы ограничились анализом возможностей влияния физической активности и факторов питания на ВОО.

Влияние физической активности на величину основного обмена

Доля энерготрат физической нагрузки зависит от образа жизни и составляет от 10%, характерных для малоподвижного, сидячего образа жизни, до 60% у лиц, регулярно занимающихся интенсивной физической деятельностью [16, 17]. К ним относятся высококвалифицированные спортсмены и лица, чьи профессии связаны с тяжелым немеханизированным физическим трудом.

Физическая активность является одним из действенных факторов, определяющих интенсивность энергетического обмена и основного обмена в том числе. Физическая активность отличается повышенными энерготратами не только вследствие выполнения энергозатратных трудовых операций, но и как следствие более высокого основного обмена у физически развитых людей [18]. В результате физической тренировки ВОО становится выше – это цена дополнительных физических возможностей [19], причем различные виды физической нагрузки обладают разной модулирующей способностью [20].

Физически активная деятельность может изменять показатель основного обмена как количественно, так и качественно по соотношению субстратов энергетического окисления (углеводов, жиров и, в крайнем случае, белков) [21–23]. При этом важную роль играют длительность и интенсивность физических нагрузок. Режим сна и бодрствования как факторы, взаимосвязанные с суточной активностью, также могут оказывать влияние на ВОО [24–27].

Особенно демонстративно это влияние проявляется, когда речь идет о спортивных тренировках. Тогда повышение уровня основного обмена обусловлено главным образом изменением состава тела. Для спортсменов силовых видов спорта с более выраженной мышечной массой и пониженной жировой массой тела уравнения прогноза ВОО на основе роста-весовых и половозраст-

ных параметров дают заниженные значения. Более точный прогноз для них обеспечивают уравнения прогноза базального обмена на основе тощей массы тела [28–30]. Применение уравнений прогноза ВОО на основе тощей массы тела для людей с низким уровнем физической активности, наоборот, дает завышенные значения.

Величина основного обмена позволяет не только проводить отбор перспективных спортсменов, но и отслеживать эффективность тренировок в динамике.

Обращает на себя внимание тот факт, что доля энерготрат за счет мышечной массы тела невелика и составляет около 13 ккал/кг [31, 32]. В покое активность скелетных мышц ниже, чем вклад печени, мозга, почек и сердца, хотя и выше активности жировой ткани [33]. В связи с этим причиной интенсификации основного обмена у спортсменов является не столько прирост мышечной массы, сколько всей системы органов и тканей, формирующих активную клеточную массу и задействованных в адаптации к высоким физическим нагрузкам.

Более того, функциональная активность сердца, легких, печени, почек и других органов в ходе тренировки переходит на новый адаптационный уровень, позволяющий более успешно справиться с высокими физическими нагрузками. В зависимости от вида спорта удельная активность тощей массы тела при этом может даже увеличиваться. В целом можно считать, что высокая скорость основного обмена у тренированных спортсменов – это плата за силу и выносливость, в основе которой лежит функциональная и физическая готовность к интенсивным физическим нагрузкам.

Влияние питания на величину основного обмена

Режим и характер питания оказывает влияние на ВОО. Ограничение в пище, например, в случае соблюдения религиозного поста, приводит к снижению интенсивности обмена веществ, в том числе базального обмена [34].

Смена характера питания с жирового на углеводный активизирует окисление жиров [35], что особенно ярко проявляется у спортсменов.

Однако влияние пищевых факторов касается главным образом соотношения энергетического использования жиров, белков и углеводов и в меньшей степени – интенсивности базального обмена [36]. Это понятно, поскольку фактическое питание и сложившиеся пищевые традиции могут отражаться на соотношении макронутриентов и, соответственно, субстратов энергетического окисления. Но энергетическая стоимость основного обмена является более устойчивым показателем, так как не зависит от того, какие резервы энергии для этого обеспечения используются.

Изменение интенсивности базального обмена может иметь место при изменении метаболической активности органов и тканей, участвующих в поддержании жизненно важных функций организма [8]. Результатом стратегии нутритивной поддержки тренировки силы и вынос-

ливости чаще всего является как раз переориентация метаболических ресурсов организма [37]. Например, включение в рацион спортивного питания аминокислот с разветвленной цепью позволяет снизить нагрузку на печень, так как их катаболизм осуществляется преимущественно в мышцах и почках [38].

Таким образом, среди множества факторов, определяющих ВОО, наиболее сильным предиктором является тощая масса тела. Жировая масса тела тоже оказывает влияние на основной обмен, но в меньшей степени. К основным влияющим факторам можно отнести уровень физической активности и характер питания.

Сведения об авторах

Выборная Ксения Валерьевна – научный сотрудник лаборатории спортивной антропологии и нутрициологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва)

E-mail: dombim@mail.ru

Соколов Александр Игоревич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории спортивной антропологии и нутрициологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва)

E-mail: sokolov@ion.ru

Кобелькова Ирина Витальевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории спортивной антропологии и нутрициологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва)

E-mail: irinavit66@mail.ru

Лавриненко Семен Валерьевич – младший научный сотрудник лаборатории спортивной антропологии и нутрициологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва)

E-mail: swetlana.chava@yandex.ru

Клочкова Светлана Валерьевна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры анатомии человека ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»

E-mail: swetlana.chava@yandex.ru

Никитюк Дмитрий Борисович – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией спортивной антропологии и нутрициологии, директор ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва)

E-mail: nikitjuk@ion.ru

Литература

1. Pinheiro Volp A.C., Esteves de Oliveira F.C., Duarte Moreira Alves R., Esteves E.A., Bressan J. Energy expenditure: components and evaluation methods // *Nutr. Hosp.* 2011. Vol. 26, N 3. P. 430–440.
2. Blasco Redondo R. Resting energy expenditure; assessment methods and applications // *Nutr. Hosp.* 2015. Vol. 31, N 3. P. 245–254.
3. Sarafian D., Miles-Chan J.L., Yepuri G., Montani J.P., Schutz Y., Dulloo A.G. A standardized approach to study human variability in isometric thermogenesis during low-intensity physical activity // *Front Physiol.* 2013. Vol. 4. P. 155.
4. Harris J.A., Benedict F.G. A biometric study of basal metabolism in man. Washington, DC, USA: Carnegie Institute of Washington, 1919. Publication No. 279.
5. Roza A.M., Shizgal H.M. The Harris Benedict equation reevaluated: resting energy requirements and the body cell mass // *Am. J. Clin. Nutr.* 1984. Vol. 40. P. 168–182.
6. Mifflin M.D., St Jeor S.T., Hill L.A., Scott B.J., Daugherty S.A., Koh Y.O. A new predictive equation for resting energy expenditure in healthy individuals // *Am. J. Clin. Nutr.* 1990. Vol. 51. P. 241–247.
7. Frankenfield D., Roth-Yousey L., Compher Ch. Comparison of predictive equations for resting metabolic rate in healthy nonobese and obese adults: a systematic review // *J. Am. Diet. Assoc.* 2005. Vol. 105, N 5. P. 775–789.
8. Muller M.J., Wang Z., Heymsfield S.B., Schautz B., Bosy-Westphal A. Advances in the understanding of specific metabolic rates of major organs and tissues in humans // *Curr. Opin Clin. Nutr. Metab. Care.* 2013. Vol. 16, N 5. P. 501–508.
9. Соколов А.И., Сото С.Х., Тарасова И.Б., Рахмонов Р.С., Васильев А.В. Состав тела и энергообмен в покое // *Вопр. питания.* 2012. Т. 81. № 2. С. 12–17.
10. Halliday D., Hesp R., Stalley S.F., Warwick P., Altman D.G., Garrow J.S. Resting metabolic rate, weight, surface area and body composition in obese women // *Int. J. Obes.* 1979. Vol. 3. P. 1–6.
11. Ravussin E., Burnand B., Schutz Y., Jequier E. Twenty-four-hour energy expenditure and resting metabolic rate in obese, moderately obese, and control subjects // *Am. J. Clin. Nutr.* 1982. Vol. 35. P. 566–573.
12. Ravussin E., Lillioja S., Anderson T.E., Christin L., Bogardus C. Determinants of 24-hour energy expenditure in man. Methods and results using a respiratory chamber // *J. Clin. Invest.* 1986. Vol. 78. P. 1568–1578.
13. Schwartz A., Kuk J.L., Lamothe G., Doucet E. Greater than predicted decrease in resting energy expenditure and weight loss: results from a systematic review // *Obesity (Silver Spring, MD).* 2012. Vol. 20. P. 2307–2310.
14. Psota T., Chen K.Y. Measuring energy expenditure in clinical populations: rewards and challenges // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2013. Vol. 67, N 5. P. 436–442.
15. Johnstone A.M., Murison S.D., Duncan J.S., Rance K.A., Speakman J.R. Factors influencing variation in basal metabolic rate include fat-free mass, fat mass, age, and circulating thyroxine but not sex, circulating leptin, or triiodothyronine // *Am. J. Clin. Nutr.* 2005. Vol. 82, N 5. P. 941–948.
16. Segal K.R., Pi-Sunyer F.X. Exercise and obesity // *Med. Clin. North Am.* 1989. Vol. 73. P. 217–36.
17. Levine J.A. Measurement of energy expenditure // *Public Health Nutr.* 2005. Vol. 8. P. 1123–1132.
18. Sjodin A.M., Forslund A.H., Westerterp K.R., Andersson A.B., Forslund J.M., Hambraeus L.M. The influence of physical activity on BMR // *Med. Sci Sports Exerc.* 1996. Vol. 28, N 1. P. 85–91.
19. Speakman J.R., Westerterp K.R. Associations between energy demands, physical activity, and body composition in adult humans between 18 and 96 y of age // *Am. J. Clin. Nutr.* 2010. Vol. 92, N 4. P. 826–834.
20. Koshimizu T., Matsushima Y., Yokota Y., Yanagisawa K., Nagai S., Okamura K. et al. Basal metabolic rate and body composition of elite Japanese male athletes // *J. Med. Invest.* 2012. Vol. 59, N 3–4. P. 253–260.

21. Henderson G.C. Sexual dimorphism in the effects of exercise on metabolism of lipids to support resting metabolism // *Front Endocrinol. (Lausanne)*. 2014. Vol. 5. P. 162.
22. Magkos F., Patterson B.W., Mohammed B.S., Mittendorfer B. A single 1-h bout of evening exercise increases basal FFA flux without affecting VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics in untrained lean men // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007. Vol. 292, N 6. P. E1568–E1574.
23. Magkos F., Wright D.C., Patterson B.W., Mohammed B.S., Mittendorfer B. Lipid metabolism response to a single, prolonged bout of endurance exercise in healthy young men // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006. Vol. 290, N 2. P. E355–E362.
24. Bayon V., Leger D., Gomez-Merino D., Vecchierini M.F., Chennaoui M. Sleep debt and obesity // *Ann. Med.* 2014. Vol. 46, N 5. P. 264–272.
25. Shechter A., Rising R., Wolfe S., Abu J.B., St-Onge M.P. Postprandial thermogenesis and substrate oxidation are unaffected by sleep restriction // *Int. J. Obes. (Lond)*. 2014. Vol. 38, N 9. P. 1153–1158.
26. St-Onge M.P. The role of sleep duration in the regulation of energy balance: effects on energy intakes and expenditure // *J. Clin. Sleep Med.* 2013. Vol. 9, N 1. P. 73–80.
27. Calvin A.D., Carter R.E., Adachi T., Macedo P.G., Albuquerque F.N., van der Walt C. et al. Effects of experimental sleep restriction on caloric intake and activity energy expenditure // *Chest*. 2013. Vol. 144, N 1. P. 79–86.
28. McArdle W. *Essentials of Exercise Physiology*. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins, 2006. 266 p.
29. Cunningham J.J. Body composition as a determinant of energy expenditure: a synthetic review and a proposed general prediction equation // *Am. J. Clin. Nutr.* 1991. Vol. 54. P. 963–969.
30. Wang Z., Heshka S., Gallagher D., Boozer C.N., Kotler D.P., Heymsfield S.B. Resting energy expenditure-fat-free mass relationship: new insights provided by body composition modeling // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2000. Vol. 279. P. E539–E545.
31. Campbell W., Crim M., Young V., Evans W. Increased energy requirements and changes in body composition with resistance training in older adults // *Am. J. Clin. Nutr.* 1994. Vol. 60, N 2. P. 167–175.
32. Pratley R., Nicklas B., Rubin M., Miller J., Smith A., Smith M., et al. Strength training increases resting metabolic rate and norepinephrine levels in healthy 50 to 65-year-old men // *J. Appl. Physiol.* 1994. Vol. 76, N 1. P. 133–137.
33. Durnin J.V.G.A. Basal metabolic rate in man. In: Report to FAO/WHO/UNU. Rome: FAO, 1981.
34. Trepanowski J.F., Canale R.E., Marshall K.E., Kabir M.M., Bloomer R.J. Impact of caloric and dietary restriction regimens on markers of health and longevity in humans and animals: a summary of available findings // *Nutr. J.* 2011. Vol. 10. P. 107.
35. Yeo W.K., Carey A.L., Burke L., Spriet L.L., Hawley J.A. Fat adaptation in well-trained athletes: effects on cell metabolism // *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2011. Vol. 36, N 1. P. 12–22.
36. Mikulova-Braunerova R., Hainer V., Kunesova M., Parizkova J., Slaba S., Wagenknecht M. Influence of vitamin A consumption on resting metabolic rate and fasting respiratory quotient in severely obese subjects // *Med. Princ. Pract.* 2003. Vol. 12, N 3. P. 189–192.
37. Hawley J.A., Leckey J.J. Carbohydrate dependence during prolonged, intense endurance exercise // *Sports Med.* 2015. Vol. 45, N 1. P. S5–S12.
38. Moore D.R. Keeping older muscle «young» through dietary protein and physical activity // *Adv. Nutr.* 2014. Vol. 5, N 5. P. 599S–607S.

References

1. Pinheiro Volp A.C., Esteves de Oliveira F.C., Duarte Moreira Alves R., Esteves E.A., Bressan J. Energy expenditure: components and evaluation methods. *Nutr Hosp.* 2011; 26 (3): 430–40.
2. Blasco Redondo R. Resting energy expenditure; assessment methods and applications. *Nutr Hosp.* 2015; 31 (3): 245–54.
3. Sarafian D., Miles-Chan J.L., Yepuri G., Montani J.P., Schutz Y., Dulloo A.G. A standardized approach to study human variability in isometric thermogenesis during low-intensity physical activity. *Front Physiol.* 2013; 4: 155.
4. Harris J.A., Benedict F.G. *A Biometric Study of Basal Metabolism in Man*. Washington, DC, USA: Carnegie Institute of Washington, 1919. Publication No. 279.
5. Roza A.M., Shizgal H.M. The Harris Benedict equation reevaluated: resting energy requirements and the body cell mass. *Am J Clin Nutr.* 1984; 40: 168–82.
6. Mifflin M.D., St Jeor S.T., Hill L.A., Scott B.J., Daugherty S.A., Koh Y.O. A new predictive equation for resting energy expenditure in healthy individuals. *Am J Clin Nutr.* 1990; 51: 241–7.
7. Frankenfield D., Roth-Yousey L., Compher Ch. Comparison of predictive equations for resting metabolic rate in healthy nonobese and obese adults: a systematic review. *J Am Diet Assoc.* 2005; 105 (5): 775–89.
8. Muller M.J., Wang Z., Heymsfield S.B., Schautz B., Bosy-Westphal A. Advances in the understanding of specific metabolic rates of major organs and tissues in humans. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2013; 16 (5): 501–8.
9. Sokolov A.I., Soto S.Kh., Tarasova I.B., Rakhmonov R.S., Vasiliev A.V. Body composition and resting metabolic rate. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2012; 81 (2): 12–7.
10. Halliday D., Hesp R., Stalley S.F., Warwick P., Altman D.G., Garrow J.S. Resting metabolic rate, weight, surface area and body composition in obese women. *Int J Obes.* 1979; 3: 1–6.
11. Ravussin E., Burnand B., Schutz Y., Jequier E. Twenty-four-hour energy expenditure and resting metabolic rate in obese, moderately obese, and control subjects. *Am J Clin Nutr.* 1982; 35: 566–73.
12. Ravussin E., Lillioja S., Anderson T.E., Christin L., Bogardus C. Determinants of 24-hour energy expenditure in man. Methods and results using a respiratory chamber. *J Clin Invest.* 1986; 78: 1568–78.
13. Schwartz A., Kuk J.L., Lamothe G., Doucet E. Greater than predicted decrease in resting energy expenditure and weight loss: results from a systematic review. *Obesity (Silver Spring, MD)*. 2012; 20: 2307–10.
14. Psota T., Chen K.Y. Measuring energy expenditure in clinical populations: rewards and challenges. *Eur J Clin Nutr.* 2013; 67 (5): 436–42.
15. Johnstone A.M., Murison S.D., Duncan J.S., Rance K.A., Speakman J.R. Factors influencing variation in basal metabolic rate include fat-free mass, fat mass, age, and circulating thyroxine but not sex, circulating leptin, or triiodothyronine. *Am J Clin Nutr.* 2005; 82 (5): 941–8.
16. Segal K.R., Pi-Sunyer F.X. Exercise and obesity. *Med Clin North Am.* 1989; 73: 217–36.
17. Levine J.A. Measurement of energy expenditure. *Public Health Nutr.* 2005; 8: 1123–32.
18. Sjodin A.M., Forslund A.H., Westerterp K.R., Andersson A.B., Forslund J.M., Hambraeus L.M. The influence of physical activity on BMR. *Med Sci Sports Exerc.* 1996; 28 (1): 85–91.
19. Speakman J.R., Westerterp K.R. Associations between energy demands, physical activity, and body composition in adult humans between 18 and 96 y of age. *Am J Clin Nutr.* 2010; 92 (4): 826–34.
20. Koshimizu T., Matsushima Y., Yokota Y., Yanagisawa K., Nagai S., Okamura K., et al. Basal metabolic rate and body composition of elite Japanese male athletes. *J Med Invest.* 2012; 59 (3–4): 253–60.
21. Henderson G.C. Sexual dimorphism in the effects of exercise on metabolism of lipids to support resting metabolism. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014; 5: 162.
22. Magkos F., Patterson B.W., Mohammed B.S., Mittendorfer B. A single 1-h bout of evening exercise increases basal FFA flux without affecting VLDL-triglyceride and VLDL-apolipoprotein B-100 kinetics in untrained lean men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 292 (6): E1568–74.

23. Magkos F., Wright D.C., Patterson B.W., Mohammed B.S., Mitterdorfer B. Lipid metabolism response to a single, prolonged bout of endurance exercise in healthy young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006; 290 (2): E355–62.
24. Bayon V., Leger D., Gomez-Merino D., Vecchierini M.F., Chennaoui M. Sleep debt and obesity. *Ann Med.* 2014; 46 (5): 264–72.
25. Shechter A., Rising R., Wolfe S., Albu J.B., St-Onge M.P. Postprandial thermogenesis and substrate oxidation are unaffected by sleep restriction. *Int J Obes (Lond).* 2014; 38 (9): 1153–8.
26. St-Onge M.P. The role of sleep duration in the regulation of energy balance: effects on energy intakes and expenditure. *J Clin Sleep Med.* 2013; 9 (1): 73–80.
27. Calvin A.D., Carter R.E., Adachi T., Macedo P.G., Albuquerque F.N., van der Walt C., et al. Effects of experimental sleep restriction on caloric intake and activity energy expenditure. *Chest.* 2013; 144 (1): 79–86.
28. McArdle W. *Essentials of exercise physiology.* Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins, 2006: 266 p.
29. Cunningham J.J. Body composition as a determinant of energy expenditure: a synthetic review and a proposed general prediction equation. *Am J Clin Nutr.* 1991; 54: 963–9.
30. Wang Z., Heshka S., Gallagher D., Boozer C.N., Kotler D.P., Heymsfield S.B. Resting energy expenditure-fat-free mass relationship: new insights provided by body composition modeling. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000; 279: E539–45.
31. Campbell W., Crim M., Young V., Evans W. Increased energy requirements and changes in body composition with resistance training in older adults. *Am J Clin Nutr.* 1994; 60 (2): 167–75.
32. Pratley R., Nicklas B., Rubin M., Miller J., Smith A., Smith M., et al. Strength training increases resting metabolic rate and norepinephrine levels in healthy 50- to 65-year-old men. *J Appl Physiol.* 1994; 76 (1): 133–7.
33. Durnin J.V.G.A. Basal metabolic rate in man. In: Report to FAO/WHO/UNU. Rome: FAO, 1981.
34. Trepanowski J.F., Canale R.E., Marshall K.E., Kabir M.M., Bloomer R.J. Impact of caloric and dietary restriction regimens on markers of health and longevity in humans and animals: a summary of available findings. *Nutr J.* 2011; 10: 107.
35. Yeo W.K., Carey A.L., Burke L., Spriet L.L., Hawley J.A. Fat adaptation in well-trained athletes: effects on cell metabolism. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2011; 36 (1): 12–22.
36. Mikulova-Braunerova R., Hainer V., Kunesova M., Parizkova J., Slaba S., Wagenknecht M. Influence of vitamin A consumption on resting metabolic rate and fasting respiratory quotient in severely obese subjects. *Med Princ Pract.* 2003; 12 (3): 189–92.
37. Hawley J.A., Leckey J.J. Carbohydrate dependence during prolonged, intense endurance exercise. *Sports Med.* 2015; 45 (1): S5–12.
38. Moore D.R. Keeping older muscle «young» through dietary protein and physical activity. *Adv Nutr.* 2014; 5 (5): 599S–607S.

Для корреспонденции

Погожева Алла Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»
 Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
 Телефон: (495) 698-53-80
 E-mail: allapogozheva@yandex.ru

Батурин А.К., Погожева А.В., Кешабянц Э.Э., Старовойтов М.Л., Кобелькова И.В., Камбаров А.О.

Изучение питания, антропометрических показателей и состава тела у коренного и пришлого населения российской Арктики

The study of nutrition, anthropometric testes and body composition among native and alien population of Russian Arctic

Baturin A.K., Pogozheva A.V., Keshabyants E.E., Starovoytov M.L., Kobelkova I.V., Kambarov A.O.

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва
 Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow

Известно, что Арктическая зона относится к территориям, дискомфортным для проживания и трудовой деятельности человека. Экологические особенности районов Крайнего Севера способствовали адаптации коренного населения к условиям внешней среды, что отразилось на особенностях питания и пищевого статуса, которые также связаны с наличием генетических полиморфных вариантов, характерных для населения Арктической зоны. Исследованы питание и пищевой статус 180 человек (78,9% женщины и 21,1% мужчин), проживающих в условиях Крайнего Севера. Полученные данные свидетельствуют о том, что частота встречаемости избыточной массы тела и ожирения (62,7%) у обследованных лиц, проживающих в условиях Арктики, выше, чем в среднем по стране (57,3%). Коренные жители (средний возраст – 45,6±1,3 года) по сравнению с пришлым населением (45,1±2,6 года) имели более низкий индекс массы тела (27,2±0,5 против 28,8±1,3 кг/м²) и меньший обхват бедер при значимо ($p<0,05$) меньшей относительной величине жировой (31,9±0,9 против 35,4±1,4 кг), тощей (67,1±0,8 против 64,6±0,9 кг) и костной массы тела, а также меньшем обмене в состоянии покоя (1329,9±16,0 против 1455,4±44,0 ккал). Представители коренного населения потребляли достоверно больше хлебобулочных изделий и рыбы (в 1,5–2,2 раза) и меньше – молочных продуктов и овощей (в 1,7–2 раза). Таким образом, особенности пищевого статуса коренного и пришлого населения Арктики, по-видимому, связаны с традициями питания и образом жизни.

Ключевые слова: ожирение, питание, пищевой статус, индекс массы тела, состав тела

Для цитирования: Батурин А.К., Погожева А.В., Кешабянц Э.Э., Старовойтов М.Л., Кобелькова И.В., Камбаров А.О. Изучение питания, антропометрических показателей и состава тела у коренного и пришлого населения российской Арктики // Вопр. питания. 2017. Т. 86. № 5. С. 11–16.

Статья поступила в редакцию 30.03.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Baturin A.K., Pogozheva A.V., Keshabyants E.E., Starovoytov M.L., Kobelkova I.V., Kambarov A.O. The study of nutrition, anthropometric testes and body composition among native and alien population of Russian Arctic. Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]. 2017; 86 (5): 11–6. (in Russian)

Received 30.03.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

Arctic zone refers to the territories that are uncomfortable for living and working of people. Ecological features of the Far North have contributed to the adaptation of the indigenous population to the conditions of the external environment, which manifested in the peculiarities of nutrition and nutritional status, which is also related to the presence of genetic polymorphisms in the population of the Arctic zone. The study of nutrition and the nutritional status of 180 people (78.9% woman u 21.1% man) living in the Far North was conducted. The data obtained indicate that the prevalence of overweight and obesity (62.7%) among the surveyed people living in the Arctic zone, was higher than among Russian people (average 57.3%). Indigenous people (mean age – 45.6±1.3 years) compared with alien population (45.1±2.6 years old) had lower BMI (27.2±0.5 vs 28.8±1.3 kg/m²) and a smaller hips along with significantly (p<0.05) lower relative fat body mass (31.9±0.9 vs 35.4±1.4 kg), lean (67.1±0.8 vs 64.6±0.9 kg) and bone body mass, as well as exchange at rest (1329.9±16.0 vs 1455.4±44.0 kcal). Indigenous population consumed significantly more bakery products and fish (1.5–2.2 fold), and less – dairy products and vegetables (1.7–2.0 fold). Thus, the peculiarities of the nutritional status of the indigenous and alien populations of the Arctic seem to be associated with the traditions of nutrition and lifestyle.

Keywords: obesity, nutrition, nutritional status, body mass index, body composition

Негативное влияние климатических условий (длительное воздействие экстремально низких температур, частый сильный ветер, осадки, годовая световая периодичность и др.) на состояние здоровья и качество жизни населения способствуют тому, что Арктическая зона относится к территориям, дискомфортным для проживания и трудовой деятельности человека [1–5]. В условиях Крайнего Севера по сравнению с другими регионами значительно выше распространённость гиповитаминоза D и алиментарно-зависимых заболеваний, таких как ожирение, метаболический синдром, сахарный диабет 2 типа и сердечно-сосудистая патология [6–8].

Как следует из результатов целого ряда исследований, особенности пищевого статуса жителей Арктики связаны в том числе с наличием генетических полиморфных вариантов, характерных для населения Арктической зоны.

Увеличение частоты неинфекционных (алиментарно-зависимых) заболеваний среди коренного населения Арктики тесно связано и с изменением традиционного типа питания. Экологические особенности районов Крайнего Севера способствовали адаптации коренного населения к условиям внешней среды, что проявилось, в частности, в структуре пищевого рациона. Известно, что для всех северных популяций характерен белково-липидный тип питания, который обеспечивает энергетические и пластические потребности организма.

Исторически основу рациона коренных жителей Арктики составляли продукты местного промысла: рыба, сало и мясо морских животных, оленина. Именно употребление белковых продуктов с наличием полноценного сбалансированного аминокислотного состава (значительное содержание полиненасыщенных жирных кислот семейства ω -3) обеспечивало низкую распространённость сердечно-сосудистой патологии у коренных жителей, которые придерживались традиционного уклада жизни [1, 10].

В последнее время отмечается явно выраженная вестернизация северного типа питания, что в первую очередь характеризуется повышением в рационе уровня рафинированных углеводсодержащих продуктов и снижением содержания полиненасыщенных жирных кислот семейства ω -3. Эти изменения структуры питания происходят на фоне распространения сидячего образа жизни и вредных привычек (курение, алкоголь, на некоторых территориях наркотические вещества) [2, 8].

Цель данной работы – изучение питания и некоторых показателей пищевого статуса (обмена покоя, антропометрических показателей и состава тела) коренного и пришлого населения российской Арктики.

Материал и методы

Исследование фактического питания и пищевого статуса коренного и пришлого населения было проведено в поселках Тазовский и Гыда Тазовского района – муниципального образования на северо-востоке Ямало-Ненецкого автономного округа.

Всего были обследованы 180 человек старше 18 лет. Из них 101 человек проживал в поселке Тазовский, и 79 человек – в поселке Гыда. Среди обследованных 77% составляли ненцы, 13% – русские, 10% – лица других национальностей (украинцы, татары, чуваша и др.). Численность коренного населения, ведущего оседлый, кочевой или полукочевой образ жизни, составила 79,2% от обследованных, тогда как пришлого населения – 20,8%. Среди обследованных было 78,9% женщин и 21,1% мужчин.

Частотный метод исследования питания основан на регистрации частоты потребления продуктов и блюд за 1 мес по списку, включающему 63 наименования [11]. При обработке данных установленная частота потребления была выражена в кратности потребления в день, а при необходимости – в неделю.

Таблица 1. Характеристика антропометрических показателей в зависимости от возраста обследованных

ИМТ, кг/м ²	В целом по стране [12]	Все обследованные	Возраст обследованных, годы		
			18-29	30-59	старше 60
<18,5	2,9	2,3	11,1	0,8	–
18,5–25,0	39,8	35,0	63,0	31,7	22,3
>25,0	57,3	62,7	25,9	67,5	77,7
Из них:					
25,0–30,0	32,3	34,5	11,1	37,4	44,4
>30,0	25,0	28,2	14,8	30,1	33,3

Здесь и в табл. 2: ИМТ – индекс массы тела.

Таблица 2. Антропометрические показатели и состав тела коренного и пришлого населения Арктической зоны (M±m)

Показатель	Коренное население	Пришлого население	Все обследованные
Возраст, годы	45,6±1,3	45,1±2,6	45,5±1,1
ИМТ, кг/м ²	27,2±0,5	28,8±1,3	27,5±0,5
Обхват талии (ОТ), см	85,6±1,1	86,2±2,7	85,8±1,0
Обхват бедер (ОБ), см	100,4±0,8	106,2±2,2	101,7±0,8
ОТ/ОБ	0,85±0,01	0,81±0,01	0,84±0,01
Жировая масса, %	31,9±0,9	35,4±1,4*	32,6±0,8
Тощая масса, %	67,1±0,8	64,6±0,9	66,4±0,7
Вода, %	47,7±0,6	45,7±0,9	47,3±0,5
Висцеральный жир, %	7,7±0,4	8,2±0,8	7,8±0,3
Костная масса, кг	2,3±0,1	2,4±0,1	2,3±0,01
Мышечная масса, кг	41,5±0,5	45,2±1,4*	42,2±0,5

Примечание. Здесь и в табл. 3–6: * – статистически значимые (p<0,05) различия между показателями коренного и пришлого населения.

Антропометрические параметры (масса тела) и состав тела (процентное содержание в организме воды, общего и висцерального жира, костную и мышечную массу тела, обмен покоя) определяли на диагностических весах-анализаторах жировой массы («Tanita», Япония). Длину тела стоя (рост) измеряли портативным ростомером («Tanita», Япония). Обхват талии (ОТ) и бедер (ОБ) определяли с помощью сантиметровой ленты, а затем рассчитывали их соотношение (ОТ/ОБ), на основании которого судили о наличии абдоминального ожирения.

Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывали по формуле: масса тела (кг)/рост (м)². Для анализа полученной величины ИМТ использовали следующие критерии: <18,5 кг/м² – недостаточная масса тела; 18,5–24,9 кг/м² – нормальная масса тела; 25,0–29,9 кг/м² – избыточная масса тела; >30,0 кг/м² – ожирение.

Обрабатывали первичный материал и проводили статистический анализ полученных данных с помощью программы SPSS v.20,0 («SPSS Inc.», США). Статистически значимыми считали различия при p<0,05.

Результаты и обсуждение

Анализ результатов антропометрических исследований (табл. 1) свидетельствовал о наличии у 62,7% обследованных избыточной массы тела и ожирения.

Как видно из табл. 1, наибольшая частота встречаемости этого показателя отмечалась у лиц старше

60 лет. При этом избыточная масса тела была выявлена почти у половины обследованных этого возраста, а ожирение – у 1/3.

Полученные данные свидетельствуют о том, что распространенность и избыточной массы тела, и ожирения у обследованных лиц, проживающих в условиях Арктики, была выше, чем в среднем по стране [12].

Хорошо известны характерные особенности северного типа питания, которые исторически предохраняли коренное население Арктики от развития неинфекционных заболеваний.

В связи с этим представлялось интересным провести сравнительное изучение антропометрических показателей и состава тела у коренного и пришлого населения Крайнего Севера (табл. 2).

Как видно из табл. 2, по сравнению с антропометрическими показателями пришлого населения у коренных представителей Крайнего Севера были выявлены более низкие значения ИМТ и обхвата бедер. Однако эти различия не достигали уровня статистической значимости.

Состав тела у представителей коренного населения Арктики характеризовался меньшим процентным содержанием жира и величины мышечной массы тела. Обмен покоя у коренных жителей Арктики (1329,9±16,0 ккал) был значимо (p<0,05) ниже, чем у пришлого населения (1455,4±44,0 ккал), что было пропорционально величине мышечной массы.

В связи с обнаруженными различиями исследуемых показателей пищевого статуса (обмена покоя, антропо-

метрических показателей и состава тела) между коренным и пришлым населением Арктической зоны, представлялось интересным изучение профиля потребления ими пищевых продуктов основных групп (табл. 3).

Как видно из табл. 3, по сравнению с пришлым населением коренные жители Арктики потребляли больше хлебобулочных изделий, жировых продуктов и рыбы, и меньше – молочных продуктов и овощей.

Анализ структуры потребления рыбы выявил достоверно более частое включение в рацион рыбных продуктов, свежей и мороженой рыбы. Среди видов рыбы коренное население чаще употребляло щекур (табл. 4).

Как видно из табл. 5, коренное население по сравнению с пришлым достоверно реже потребляло кисломолочные продукты (кефир, ряженку, простоквашу), молоко, сметану, творог и сыр, а достоверно чаще – консервированные молочные продукты: молоко сгущенное с сахаром.

Особенности потребления пищевых продуктов коренным населением – предпочтение консервированных продуктов, по-видимому, было связано с кочевым и полукочевым образом жизни.

Анализ частоты потребления мясных продуктов не показал достоверной разницы в общей частоте их потреб-

ления коренным и пришлым населением (табл. 6). Однако при обращении внимания на их ассортимент можно констатировать, что коренные жители по сравнению с пришлым населением реже употребляли продукты переработки мяса (сосиски, колбасы, котлеты, пельмени), а из натурального мяса – говядину, свинину и птицу. В их рационе чаще встречалась оленина (включая печень и кровь оленя) и мясные консервы.

Заключение

Анализ результатов исследований некоторых параметров пищевого статуса свидетельствует о наличии у 62,7% жителей Арктической зоны (поселки Тазовский и Гыда Тазовского района) избыточной массы тела и ожирения, частота встречаемости которых увеличивалась с возрастом. Полученные данные свидетельствуют о том, что распространенность избыточной массы тела и ожирения у обследованных лиц, проживающих в условиях Арктической зоны, выше, чем в среднем по стране (57,3%, из них ожирения – 25,0%) [12].

Из данных литературы известно, что избыточная масса тела и ожирение в основном выявляются у жите-

Таблица 3. Частота потребления разных продуктов коренным и пришлым населением Арктической зоны (количество порций в день) ($M \pm m$)

Продукты	Коренное население	Пришлом население	Все обследованные
Хлебобулочные изделия	4,6±0,2	3,0±0,3*	4,3±0,2
Каши и макароны	1,0±0,1	1,1±0,1	1,0±0,0
Овощи	2,3±0,1	3,8±0,4*	2,6±0,1
Фрукты	1,3±0,1	1,7±0,2	1,4±0,1
Кондитерские изделия	1,3±0,1	1,2±0,2	1,3±0,1
Жировые продукты	2,4±0,1	1,7±0,2*	2,2±0,1
Мясопродукты	2,1±0,1	2,0±0,2	2,1±0,1
Рыбопродукты	0,9±0,1	0,4±0,1*	0,8±0,1
Молочные продукты	1,0±0,1	2,0±0,2*	1,2±0,1

Таблица 4. Частота потребления рыбных продуктов коренным и пришлым населением (количество порций в неделю) ($M \pm m$)

Продукты	Коренное население	Пришлом население	Все обследованные
Рыбопродукты (все)	6,5±0,4	3,0±0,4*	5,8±0,4
Рыба свежая или мороженая	6,0±0,4	2,1±0,4*	5,2±0,4
Рыба копченая, соленая, вяленая	0,5±0,1	0,9±0,2	0,6±0,1
В том числе:			
муксун	1,0±0,2	0,7±0,2	0,9±0,1
щекур	3,6±0,3	1,0±0,2*	3,1±0,3
ряпушка	0,6±0,2	0,3±0,1	0,5±0,1

Таблица 5. Частота потребления молочных продуктов коренным и пришлым населением (количество порций в неделю) ($M \pm m$)

Продукты	Коренное население	Пришлом население	Все обследованные
Кефир, ряженка, простокваша	0,7±0,1	3,1±0,6*	1,2±0,2
Молоко, сливки	1,1±0,2	4,1±0,7*	1,7±0,2
Молоко сгущенное с сахаром	2,2±0,3	0,3±0,1*	1,8±0,2
Сметана	1,3±0,2	2,4±0,4*	1,5±0,2
Творог и блюда из творога	0,8±0,2	1,4±0,2*	0,9±0,1
Сыр твердый, плавленый	0,9±0,1	2,9±0,5*	1,3±0,2

Таблица 6. Частота потребления некоторых мясных продуктов коренным и пришлым населением (количество порций в неделю) ($M \pm m$)

Продукты	Коренное население	Пришлое население	Все обследованные
Сосиски, колбасы	2,0±0,3	2,8±0,5	2,2±0,3
Говядина	0,3±0,01	1,8±0,5	0,7±0,1
Свинина	0,1±0,01	1,4±0,4*	0,4±0,1
Баранина	0	0	0
Оленина	9,8±0,8	3,3±0,6*	8,5±0,7
Птица	0,6±0,1	2,2±0,4*	0,9±0,1
Печень животных	0,7±0,2	0,2±0,01*	0,6±0,1
Консервы мясные	0,1±0,01	0	0,1±0,01
Котлеты	0,8±0,1	0,9±0,2	0,8±0,1
Пельмени	0,3±0,1	1,2±0,9	0,5±0,2
Кровь оленя	1,2±0,2	0	0,9±0,2

лей Крайнего Севера западного полушария. По данным некоторых зарубежных исследователей, распространенность ожирения среди взрослого коренного населения Аляски составляла 39,4–47,1%, что достоверно выше, чем среди американцев европейского происхождения (24,3%) [13, 14]. По результатам проведенных исследований, частота встречаемости ожирения у жителей российской Арктики составила 28,2%, что значительно ниже, чем у населения Аляски.

По нашим данным, у жителей Арктической зоны России средняя величина ИМТ ($27,5 \text{ кг/м}^2$) также ниже, чем у населения Аляски ($31,6 \text{ кг/м}^2$) и у американцев европейского происхождения ($29,2 \text{ кг/м}^2$) [13].

Среди обследованных Крайнего Севера коренные жители имели более низкий ИМТ ($27,2 \text{ кг/м}^2$), чем пришлое население ($28,8 \text{ кг/м}^2$), меньшие объемы талии и бедер, относительную величину жировой (в том числе висцерального жира), мышечной и костной массы, обмен в состоянии покоя (что было пропорционально величине мышечной массы тела).

Отличия величины изученных показателей пищевого статуса (обмена покоя, антропометрических

показателей и состава тела) коренных жителей Арктики от параметров пришлое населения, по-видимому, были связаны с северными традициями их типа питания.

Полученные данные свидетельствуют, что представители коренного населения достоверно чаще включают в рацион хлебобулочные изделия и рыбу, и реже – молочные продукты и овощи. Анализ структуры потребления пищевых продуктов выявил предпочтение представителями коренного населения Арктики консервированных продуктов (копченой, вяленой и соленой рыбы, молока сгущенного, мясных консервов), что, по-видимому, было связано с кочевым и полукочевым образом жизни. В то же время коренные жители реже употребляют продукты переработки мяса, а также говядину, свинину и птицу. В их рационе в 2–3 раза чаще встречается оленина, в том числе печень и кровь оленя [1].

Таким образом, особенности пищевого статуса коренного и пришлое населения Арктики, по-видимому, связаны с традициями питания, уровнем физической активности и образом жизни.

Сведения об авторах

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва):

Батурин Александр Константинович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель научного направления «Оптимальное питание»

E-mail: baturin@ion.ru

Погожева Алла Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний

E-mail: allapogozheva@yandex.ru

Кешабянц Эвелина Эдуардовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний

E-mail: evk1410@mail.ru

Старовойтов Михаил Леонидович – научный сотрудник лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний

E-mail: starovoytovm@yandex.ru

Кобелькова Ирина Витальевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории спортивной антропологии и нутрициологии

ORCID: 0000-0002-1237-5147

E-mail: kobelkova@ion.ru

Камбаров Алексей Олегович – доктор экономических наук, заведующий лабораторией эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний, заместитель директора по научной работе
E-mail: mailbox@ion.ru

Литература

1. Абрамов А.Ф., Роббек Н.С. Обеспечение суточной потребности в питательных веществах коренных народностей за счет употребления оленины // Сборник статей межрегиональной научно-практической конференции «Питание – основа образа жизни и здоровья населения в условиях Севера». Якутск, 4–5 апреля 2012. С. 108–110.
2. Афтanas Л.И., Воевода М.И., Пузырев В.П. Арктическая медицина: вызовы XXI века // Научно-технические проблемы освоения Арктики / РАН. М.: Наука, 2014. 117 с.
3. Максимова С.Н., Никитина С.Г., Савин Р.Г. Особенности питания населения арктической зоны // Сборник статей межрегиональной научно-практической конференции «Питание – основа образа жизни и здоровья населения в условиях Севера». Якутск, 4–5 апреля 2012 г. С. 110–111.
4. Revich B.A., Shaposhnikov D.A. Extreme temperature episodes and mortality in Yakutsk // Rural Remote Health. 2010. Vol. 10. P. 1–8.
5. Young T.K., Makinen T.M. The health of Arctic populations: does cold matter? // Am. J. Hum. Biol. 2010. Vol. 22. P. 129–133.
6. Tokarev S.A., Buganov A.A. Evaluation and prognosis of non-infectious risk in children in dependence on age and period of living in the Far North // Alaska Med. 2007. Vol. 49, N 2. P. 142–144.
7. Alaska Obesity Facts Report 2014. Alaska: Governor Department of Health and Social Services, May 2014.
8. Sharma S., Barr A. B., Macdonald H. M. et al Vitamin D deficiency and disease risk among aboriginal Arctic population // Nutr. Rev. 2011. Vol. 69, N 8. P. 468–478.
9. Батуринов А.К., Сорокина Е.Ю., Погожева А.В., Тутельян В.А. Ассоциация генетических полиморфизмов с неинфекционными заболеваниями у населения Арктики // Вопр. питания. 2016. Т. 85, № 5. С. 5–12.
10. Tchernyak A.Y., Petrov I.M., Sholomov I.F. Metabolic disorders correction in patients with metabolic syndrome and hypertension living in condition of the North // J. Hypertens. 2012. Vol. 30, e-Suppl. A. P. 311–312.
11. Мартинчик А.Н., Батуринов А.К., Баева В.С. и др. Разработка метода исследования фактического питания по анализу частоты потребления пищевых продуктов: создание вопросника и общая оценка достоверности метода // Вопр. питания. 1998. № 3. С. 8–13.
12. Козырева П.М., Сафронова А.М., Старовойтов М.Л. Анализ фактического питания и пищевого статуса различных групп населения // Вестник Российского мониторинга экономического положения и здоровья населения НИУ ВШЭ (RLMS-HSE). Вып. 4, сборник научных статей / под ред. П.М. Козыревой. М.: Нац. исслед. ун-т «Высшая школа экономики», 2014. 207 с.
13. Hutchinson R.N., Shin S. Systematic Review of health disparities for cardiovascular diseases and associated factors among American Indian and Alaska native populations // PLoS One. 2014. Vol. 9, N 1: e80973.
14. Slattery M.L., Ferucci E.D., Murtaugh M.A. et al Associations among body mass index, waist circumference, and health indicators in American Indian and Alaska native adults // Am. J. Health Promot. 2010. Vol. 24, N 4. P. 246–254.

References

1. Abramov A.F., Robbek N.S. Providing daily nutritional needs of indigenous peoples by eating venison. In: Collected Articles Interregional Scientific-Practical Conference «Power – the Basis of Lifestyle and Health of the Population in the North». Yakutsk, April 4–5 2012: 108–110. (in Russian)
2. Aftanas L.I., Voivod, M.I., Puzyrev V.P. Arctic Medicine: Challenges of the XXI century. In: Scientific and Technical Problems of the Arctic. RAS. Moscow: Nauka, 2014: 117 p. (in Russian)
3. Maksimov S.N., Nikitin S.G., Savin R.G. Feeding habits of the population of the Arctic zone. In: Collected Articles Interregional Scientific-Practical Conference «Power – the Basis of Lifestyle and Health of the Population in the North». Yakutsk, 4–5 April 2012: 110–111. (in Russian)
4. Revich B.A., Shaposhnikov D.A. Extreme temperature episodes and mortality in Yakutsk. Rural Remote Health. 2010; 10: 1–8.
5. Young T.K., Makinen T.M. The health of Arctic populations: does cold matter? Am J Hum Biol. 2010; 22: 129–33.
6. Tokarev S.A., Buganov A.A. Evaluation and prognosis of non-infectious risk in children in dependence on age and period of living in the Far North. Alaska Med. 2007; 49 (2): 142–4.
7. Alaska Obesity Facts Report 2014. Alaska: Governor Department of Health and Social Services, May 2014.
8. Sharma S., Barr A. B., Macdonald H. M., et al Vitamin D deficiency and disease risk among aboriginal Arctic population. Nutr Rev. 2011; 69 (8): 468–78.
9. Baturin A.K., Sorokina E.Yu., Pogozheva A.V., Tutelian V.A. The association of genetic polymorphisms with non-communicable disease among Arctic population. Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]. 2016; 85 (5): 5–12. (in Russian)
10. Tchernyak A.Y., Petrov I.M., Sholomov I.F. Metabolic disorders correction in patients with metabolic syndrome and hypertension living in condition of the North. J Hypertens. 2012; 30 (e-Suppl. A): 311–2.
11. Martinchik A.N., Baturin A.K., Baev V.S., et al. Development of a method of research of the actual power to analyze the frequency of food consumption: the creation of a questionnaire and an overall assessment of the reliability of the method. Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]. 1998; (3): 8–13. (in Russian)
12. Kozyreva P.M., Safronova A.M., Starovoytov M.L. An analysis of dietary intake and nutritional status of different population groups. In: Kozyrevo P.M. (ed.). Bulletin of the Russian Monitoring the Economic Situation and the Health of the Population of HSE (RLMS-HSE). Is. 4. Collection of Scientific Articles. Moscow: National Research University Higher School of Economics; 2014: 207 p. (in Russian)
13. Hutchinson R.N., Shin S. Systematic Review of Health Disparities for Cardiovascular Diseases and Associated Factors among American Indian and Alaska Native Populations. PLoS One. 2014; 9 (1): e80973.
14. Slattery M.L., Ferucci E.D., Murtaugh M.A., et al Associations among body mass index, waist circumference, and health indicators in American Indian and Alaska native adults // Am J Health Promot. 2010; 24 (4): 246–54.

Для корреспонденции

Кобелькова Ирина Витальевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории спортивной антропологии и нутрициологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14

Телефон: (495) 698-53-90

E-mail: irinavit66@mail.ru

Кобелькова И.В., Мартинчик А.Н., Кудрявцева К.В., Батулин А.К.

Режим питания в сохранении здоровья работающего населения

Diet pattern and health
of working people

Kobelkova I.V., Martinchik A.N.,
Kudryavtseva K.V., Baturin A.K.

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва
Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
Moscow

По результатам исследования Международного бюро труда плохое питание на работе обходится мировому сообществу 20-процентным снижением производительности труда. Хронические неинфекционные заболевания, факторами риска которых являются нарушения питания, обуславливают около 46% заболеваемости и 60% смертности в мире, в том числе до 30% смертности от сердечно-сосудистых заболеваний. Экономически развитые страны сталкиваются с большими финансовыми потерями от ожирения. Так, ежегодные издержки, такие как медицинское страхование, оплачиваемые листы нетрудоспособности, отпускные и другие выплаты, составляют от 2 до 7% от общего объема расходов на здравоохранение. Предприятия общественного питания в учреждениях способны обеспечить максимальное приближение к оптимальному питанию сотрудников, в том числе в части режима приемов пищи (завтрака, обеда и полдника, а иногда и ужина), что обеспечит профилактику ряда важнейших неинфекционных заболеваний, таких как сердечно-сосудистые, включая инфаркт, инсульт, онкологические, сахарный диабет 2 типа.

Ключевые слова: работающее население, ожирение, режим питания, профилактика неинфекционных заболеваний

By results of a research of the International Bureau of Work (IBW), malnutrition at work costs the world community of 20% work decline in production. Chronic noninfectious diseases which risk factors are disturbances of nutrition cause about 46% of morbidity and 60% of mortality in the world, including to 30% of mortality from cardiovascular diseases. Economically developed countries face larger financial losses from an obesity. So annual expenses, such as medical insurance, paid sick days, holidays and other payments make from 2 to 7% from the total amount of expenses on health care. Catering establishments in institutions are capable to provide the maximum approach

Для цитирования: Кобелькова И.В., Мартинчик А.Н., Кудрявцева К.В., Батулин А.К. Режим питания в сохранении здоровья работающего населения // Вопр. питания. 2017. Т. 86. № 5. С. 17–21.

Статья поступила в редакцию 10.02.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Kobelkova I.V., Martinchik A.N., Kudryavtseva K.V., Baturin A.K. Diet pattern and health of working people. Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]. 2017; 86 (5): 17–21. (in Russian)

Received 10.02.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

to an optimum nutrition of employees, including, regimen of meals (a breakfast, a lunch and an afternoon snack, and sometimes and a dinner) that will provide prophylaxis of a series of the major noninfectious diseases, such as infarct, stroke, diabetes mellitus of the II type, cancer.

Keywords: *the working population, obesity, diet pattern, prophylaxis of noninfectious diseases*

По результатам исследования Международного бюро труда (XVII Всемирный конгресс по безопасности и гигиене труда), плохое питание на работе обходится мировому сообществу 20-процентным снижением производительности труда вследствие неправильного рациона питания около 1 млрд людей в развивающихся странах, наличия избыточной массы тела или ожирения у примерно еще такого же количества лиц, проживающих в промышленно развитых странах [1].

Реальность такова, что работодатель пока еще не видит мотивации для выделения дополнительных расходов по обеспечению организованным питанием сотрудников в рабочее время. Рыночные условия, потребность в снижении затрат и высокий уровень безработицы заставляют людей мириться с текущими условиями работы, перекусывать на бегу, оставлять большие перерывы между приемами пищи и откладывать основную долю своего рациона на вечернее время после окончания рабочего дня. При этом материальное положение далеко не всем позволяет получить полный обед или ужин в кафе или ресторане, а следовательно, необходимо затрачивать дополнительное время и энергию на закупку продуктов в магазине, дорогу домой, приготовление еды. Таким образом, у этой группы работающего населения основной по энергетической ценности прием пищи происходит непосредственно перед сном.

В то же время исследование пищевого поведения на рабочем месте показало, что хорошая организация общественного питания может повысить уровень производительности, позволит предотвратить проблемы дефицита макро- и микронутриентов в рационе, развитие хронических заболеваний, в частности ожирения и его осложнений, при незначительных инвестициях работодателя, компенсирующихся сокращением дней нетрудоспособности, оплаты этих дней, а следовательно, недополученной прибыли и уменьшением числа несчастных случаев на работе [1].

По данным Всемирной организации здравоохранения, хронические неинфекционные заболевания (НИЗ), факторами риска которых являются нарушения питания, обуславливают около 46% заболеваемости и 60% смертности в мире, в том числе до 30% смертности от сердечно-сосудистых заболеваний. Из 38 млн случаев смерти от НИЗ в 2012 г. 16 млн, или 42%, были преждевременными и могли быть предотвращены [2].

Экономически развитые страны сталкиваются с большими финансовыми потерями от хронических НИЗ, где связанные с ожирением ежегодные издержки, такие как медицинское страхование, оплачиваемые листы

нетрудоспособности, отпускные и другие выплаты составляют от 2 до 7% от общего объема расходов на здравоохранение: так, в США в стоимостном выражении это 12,7 млрд долларов. В этой же стране, где более 2/3 населения имеет избыточную массу тела, прямые медицинские расходы на лечение возникающих вследствие ожирения заболеваний достигают 51,6 млрд долларов, а потери производительности составляют примерно 3,9 млрд долларов. В Юго-Восточной Азии из-за дефицита железа в рационах питания потери производительности труда составляют около 5 млрд долларов США, в Индии – от 10 до 28 млрд долларов, что составляет от 3 до 9% от валового внутреннего продукта [1].

Неправильное питание лежит в основе множества проблем на рабочем месте, таких как неуравновешенное нервно-психическое состояние, снижение производительности, нарушение техники безопасности и невозможность сохранения здоровья работников в перспективе. Организованное питание на работе – это один из способов обеспечить работникам по крайней мере 1, а при правильном планировании и достаточном материальном обеспечении – 3 полноценных приема пищи в день [3].

Здоровое питание, включая обеспечение безопасности и качества пищевых продуктов, для человека столь же важно, как защита от химических веществ, неионизирующего излучения от компьютера или шума на рабочем месте.

В Российской Федерации 57% от общей смертности населения обусловлено сердечно-сосудистыми заболеваниями. Результаты тщательно организованных исследований по профилактике ишемической болезни сердца показали тесную положительную корреляцию между потреблением насыщенного жира и частотой случаев ишемической болезни сердца. И наоборот, уменьшение их потребления с высокого уровня до низкого, замена жиром, содержащим полиненасыщенные жирные кислоты семейства ω -6 и ω -3, снижало концентрацию холестерина в сыворотке крови на 15% и более и приводило к понижению частоты возникновения ишемической болезни сердца [2].

Популяризация оптимального питания способствует не только профилактике сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета 2 типа, но и целого ряда онкологических заболеваний. Так, обнаружена положительная связь между раком пищевода и низким потреблением овощей, свежих фруктов, животного белка, витаминов А и С, никотиновой кислоты, магния, кальция, цинка и молибдена и высоким потреблением соленых

и маринованных продуктов, а также очень горячих блюд и напитков [4]. Рак желудка связывают с высоким потреблением копченых и соленых продуктов и малым содержанием в рационе свежих овощей и фруктов. Риск развития онкологических заболеваний толстой кишки обратно пропорционален количеству съеденных продуктов, содержащих большое количество клетчатки (капуста, свекла, морковь, яблоки, слива, все ягоды). Овощи и фрукты являются основными поставщиками пищевых и непищевых веществ, обладающих потенциальными антиканцерогенными свойствами (среди них каротиноиды, антоцианы), а также пищевых волокон, которые, с одной стороны, адсорбируют на себя токсичные элементы и иные вещества, обладающие токсическим действием, а с другой – являются пребиотиками, дающими возможность нормального роста и развития собственной полезной микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека, особенно его дистальных отделов [2, 4–6].

Другими исследованиями показано, что существует прямая связь между смертностью от рака молочной железы и калорийностью пищи, а также высоким потреблением пищевых жиров молока, говядины, низким уровнем пищевых волокон и каротиноидов в рационе. На развитие рака эндометрия у женщин влияет ожирение [4].

По данным международных исследований заболеваемости и смертности от рака предстательной железы, факторами повышения риска развития являются избыточная масса тела и ожирение, недостаточное потребление овощей и фруктов, витамина А, ликопина [4, 7].

В конце первого десятилетия XXI в. в нашей стране была предпринята одна из немногих попыток изучить питание и состояние здоровья населения РФ, работающего с источниками ионизирующего излучения. Было установлено, что на здоровье работников влияет не только профессиональный фактор, но наравне с ним, а иногда и существеннее, неправильное питание и низкий уровень физической активности. Только 43% обследованных имели нормальную массу тела, а после 40 лет эта доля снижалась до 30%. Неоптимальное питание: высокая калорийность, увеличение потребления жиров на 30% по сравнению с рекомендованными уровнями, недостаточное количество овощей и фруктов, рыбы, молочных продуктов и, как следствие, дефицит пищевых волокон, витаминов и микроэлементов, минорных биологически активных веществ, – отмечены в разной степени у 80% работников. Крайне низкий коэффициент физической активности ухудшает эту ситуацию [6].

Еще одним результатом этой работы было установление невысокой доли работающих лиц, имеющих полноценный завтрак перед работой. Это стало причиной того, что существенная часть рациона, а следовательно, и его калорийности смещалась на вторую половину дня, в том числе на ужин [7].

По данным другого исследования, проведенного в Финляндии в 2011 г. в 4 разных сферах экономики,

включая офисных сотрудников, наиболее важными факторами в питании во время работы были наличие предприятия общественного питания на крупных производствах и в учреждениях, высшее образование и более высокий профессиональный уровень. Работники с высоким профессиональным статусом и проживающие в столице страны, Хельсинки, посещали столовые чаще, чем другие. Следует отметить, что даже те, кто питался в буфете на стройплощадке, потребляли больше овощных и рыбных блюд, чем работники, в чьем рационе было принесенное из дома питание. Кроме того, ежедневное потребление овощей и доля ежедневных потребителей овощей были выше среди работающих мужчин, пользующихся столовой [8].

В Российской Федерации, как и в большинстве развитых стран, все большее число работников приходится на сотрудников различных учреждений, офисов. Малоподвижный образ жизни, в том числе на работе, замкнутые, плохо проветриваемые пространства, неправильное питание не способствуют хорошему состоянию здоровья.

Питание относят к основным факторам профилактики таких неинфекционных заболеваний, как инфаркт, инсульт, сахарный диабет 2 типа, рак [9, 10].

Первым правилом оптимального питания является баланс (соответствие) энергетической ценности (калорийности) рациона энерготратам конкретного человека.

Соблюдение принципов сбалансированности и умеренности невозможно без установления режима питания. Это такая же часть здорового образа жизни, как и личная гигиена, занятия физкультурой [4, 9].

По результатам проведенных исследований на предприятиях атомной промышленности РФ было выявлено, что у 50% сотрудников перед выходом на работу отсутствовал завтрак, что приводило к смещению пищевой и энергетической ценности на вторую половину дня, в том числе на вечер. В комплексе со сниженной физической активностью и повышенной калорийностью рационов, особенно за счет жиров, у 70% обследованного контингента старше 40 лет были выявлены избыточная масса тела и ожирение [7, 11].

Физиологически наиболее обоснован как минимум 4-разовый прием пищи в течение дня. Питание должно быть дробным, небольшими порциями. Ужин рекомендуется не позднее, чем за 2 ч до сна.

Во всех документах по лечебно-профилактическому питанию указывается на обязательность горячего завтрака перед работой. Согласно рекомендациям, на завтрак должно приходиться около 25% энергетической ценности дневного рациона.

Полноценный обед, состоящий из холодной закуски, первого и второго горячих блюд, гарнира и напитка, должен обеспечивать в среднем 35% калорийности пищи в день. Разнообразие свежеприготовленных холодных закусок из сырых и отварных овощей, горячих первых и вторых блюд, сбалансированность их рецептур в составе обеда, пищевая, в том числе витаминная, ценность являются не только обязательным условием высокой работоспособности, включая напряженный

умственный труд, человека во второй половине рабочего дня, но и фактором снижения риска развития целого ряда заболеваний желудочно-кишечного тракта, таких как гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, синдром раздраженного кишечника и др.

На полдник рекомендуется 15% энергетической ценности суточного рациона, а на ужин – не более 25%.

В тех офисах, где невозможно разместить полноценную столовую, работающую на продовольственном сырье, в соответствии с действующими требованиями санитарного законодательства выделяют помещение для буфета-раздаточной и осуществляют доставку из базовой столовой и раздачу горячего питания под заказ, сформированный накануне.

При современной загруженности работающего населения в условиях домашнего хозяйства далеко не всегда возможно обеспечить такое разнообразие рациона в течение дня и рабочей недели, как предоставляемое профессиональными технологами и поварами на специализированных предприятиях общественного питания. В меню всегда присутствуют рыбные, творожные, овощные блюда, крупяные гарниры, фруктовые или ягодные десерты. Имеющееся на производстве современное оборудование, в том числе пароконвектоматы, позволяет применять щадящие технологии пригото-

вления, включать в рацион блюда диетической направленности. Со стороны администрации учреждений обычна в применении практика проверок состояния столовой, что позволяет добиться максимального качества и разнообразия блюд меню и удовлетворенности сотрудников офиса.

Выводы

1. В сохранении здоровья и работоспособности населения, в том числе инженерно-технического и административного персонала, существенную роль играет питание, в частности его режим.
2. В питании работников большое значение имеют оптимальная энергетическая ценность, сбалансированность по белкам, жирам, углеводам и разнообразие рациона.
3. Предприятия общественного питания в учреждениях способны обеспечить максимальное приближение к оптимальному питанию сотрудников, в том числе в части режима приемов пищи (завтрака, обеда и полдника, а иногда и ужина), что обеспечит профилактику ряда важнейших НИЗ, в первую очередь сердечно-сосудистых, включая инфаркт и инсульт, онкологических, сахарного диабета 2 типа.

Сведения об авторах

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва):

Кобелькова Ирина Витальевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории спортивной антропологии и нутрициологии

ORCID: 0000-0002-1237-5147

E-mail: kobelkova@ion.ru

Мартинчик Арсений Николаевич – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний

E-mail: amartin@ion.ru

Кудрявцева Ксения Владимировна – лаборант-исследователь лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний

E-mail: kudryavtseva.ks@yandex.ru

Батурин Александр Константинович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель направления «Оптимальное питание»

E-mail: baturin@ion.ru

Литература

1. Итоговый документ XVII Всемирного конгресса по охране труда. Орландо, 18–22 сент. 2005. URL: http://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---europe/---ro-geneva/---sro-moscow/documents/genericdocument/wcms_312025.pdf
2. World Health Organization WHO. Obesity and overweight. Fact Sheet. N 311. [Электронный ресурс]: Media Centre. Reviewed May 2014 cited 17 July 2014. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
3. Food at Work: Workplace Solutions for Malnutrition, Obesity and Chronic Diseases, Christopher Wanjek, ISBN 92-2-11715-2, International Labour Office. Geneva, 2005.
4. Мартинчик А.Н., Маев И.В., Петухов А.Б. Питание человека (основы нутрициологии). М.: ГОУ ВУНЦМЗ РФ, 2002. 575 с.
5. Тутельян В.А., Погожева А.В., Батурин А.К. Биологически-активные компоненты питания кардиологических больных. М.: СвР-АРГУС, 2012. 380 с.
6. Кобелькова И.В., Батурин А.К. Анализ рациона питания лиц, работающих с источниками ионизирующего излучения на предприятиях Москвы и Московской области // *Вопр. питания*. 2010. Т. 79, № 1. С. 40–45.
7. Bostwick D.G., Burke H.B. Human prostate cancer risk factors // *Cancer*. 2004. Vol. 101, suppl. 10. P. 2371–2490. URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.20408/full#fn2>.
8. Raulio S. Lunch eating patterns during working hours and their social and work-related determinants. Study of Finnish employees (THL- Research 68/2011).

9. Roos G. Media debate on obesity prevention in the UK and Sweden // *Scand. J. Nutr.* 2005. Vol. 49, N 1. P. 38–39.
10. Pagoto S.L., Appelhans B.M. A call for an end to the diet debates. [Электронный ресурс] // *JAMA.* 2013. Vol. 310, N 7. P. 687–688. URL: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=1730520>.
11. Кобелькова И.В. Анализ рационов лечебно-профилактического питания лиц, работающих в условиях воздействия токсических веществ // Материалы научно-практической конференции Минздравсоцразвития РФ и ФМБА России «Актуальные вопросы промышленной токсикологии». М., 2010. 4 с.

References

1. The final document of the XVII World congress on labor protection. Orlando, 18–22 September, 2005. URL:http://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---europe/---ro-geneva/---sro-moscow/documents/genericdocument/wcms_312025.pdf. (in Russian)
2. World Health Organization WHO. Obesity and overweight. Fact Sheet. N 311.[Electronic Resource]: Media Centre. Reviewed May 2014 cited 17 July 2014. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
3. Food at Work: Workplace Solutions for Malnutrition, Obesity and Chronic Diseases, Christopher Wanjek, ISBN 92-2-11715-2, International Labour Office. Geneva, 2005.
4. Martinchik A.N., Mayev I.V., A.B. Pitaniye's Nutrition of the person (nutritsiologiya basis). Moscow: GOU VUNTSM MZ RF, 2002: 575 p. (in Russian)
5. Tutelyan V. A., Pogozeva A.V., Baturin A.K. Biological active components of anutrition of cardiologic patients. Moscow : SvR-ARGUS, 2012: 380 p. (in Russian)
6. Kobelkova I.V., Baturin A.K. The analysis of a food allowance of the persons working with sources of ionizing radiation at the enterprises of Moscow and the Moscow region. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2010; 79 (1): 40–5. (in Russian)
7. Bostwick D.G., Burke H.B. Human prostate cancer risk factors. *Cancer.* 2004; 101 (10): 2371–490. URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.20408/full#fn2>.
8. Raulio S. Lunch eating patterns during working hours and their social and work-related determinants. *Study of Finnish employees (THL-Research 68/2011)*.
9. Roos G. Media debate on obesity prevention in the UK and Sweden. *Scand J Nutr.* 2005; 49 (1): 38–9.
10. Pagoto S.L., Appelhans B.M. A call for an end to the diet debates. *JAMA.* 2013; 310 (7): 687–8. URL: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=1730520>
11. Kobelkova I.V. The analysis of rations of a treatment-and-prophylactic delivery of the persons working in the conditions of influence of toxic substances. In: *Materials of a Scientific and Practical Conference of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation and FMBA of Russia «Topical Issues of an Industrial Toxicology»*. Moscow; 2010: 4 p. (in Russian)

Для корреспонденции

Гаврилова Наталья Борисовна – доктор технических наук, профессор кафедры продуктов питания и пищевой биотехнологии ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина»
 Адрес: 644008, г. Омск, Институтская пл., д. 2
 Телефон: (3812) 65-14-54
 E-mail: gavrilov49@mail.ru

Гаврилова Н.Б.¹, Щетинин М.П.², Чернопольская Н.Л.¹

Научно-экспериментальное обоснование рецептуры специализированного продукта для питания спортсменов, обогащенного пробиотическими микроорганизмами

Experimental and scientific formulation development of a specialized (sport) product, enriched with probiotic microorganisms

Gavrilova N.B.¹, Schetinin M.P.², Chernopolskaya N.L.¹

- ¹ ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина»
² ФГБОУ ВО «Алтайский государственный технический университет им. И.П. Ползунова», Барнаул
¹ Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin
² Polzunov Altai State Technical University, Barnaul

Целью работы стало научное обоснование рецептуры специализированного пробиотического пищевого продукта для питания спортсменов с использованием функционального пищевого ингредиента – ассоциации пробиотиков (лакто- и бифидобактерий), иммобилизованных в гель биополимеров. В качестве основного сырья использовалось молоко коровье обезжиренное; в качестве компонентов, регулирующих белково-углеводный состав многокомпонентного продукта, были выбраны изолят сывороточных белков, мед натуральный (пчелиный), мальтодекстрин. В качестве адаптогена животного происхождения был использован комплекс на основе дефибрированной крови и экстракта пантов северного оленя, для дополнения качественного и количественного состава витаминов и минеральных веществ – премикс, содержащий 7 витаминов, кальций и железо. Изложен процесс получения пищевого функционального ингредиента для ферментации нормализованной смеси и обогащения продукта жизнеспособными клетками пробиотиков. Для их защиты в условиях технологического процесса производства, а также в желудке и кишечнике исследован процесс иммобилизации ассоциации пробиотиков в биополимерный гель. Эффективность доставки ассоциации пробиотических микроорганизмов, иммобилизованных в гель, доказана проведением исследований в условиях имитирующих процесс пищеварения в полости желудка и верхнего отдела кишечника человека. Полученный экспериментальным путем функциональ-

Для цитирования: Гаврилова Н.Б., Щетинин М.П., Чернопольская Н.Л. Научно-экспериментальное обоснование рецептуры специализированного продукта для питания спортсменов, обогащенного пробиотическими микроорганизмами // *Вопр. питания.* 2017. Т. 86. № 5. С. 22–28.

Статья поступила в редакцию 10.07.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Gavrilova N.B., Schetinin M.P., Chernopolskaya N.L. Experimental and scientific formulation development of a specialized (sport) product, enriched with probiotic microorganisms. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2017; 86 (5): 22–8. (in Russian)

Received 10.07.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

ный пищевой ингредиент использовали для ферментации нормализованной смеси компонентов в технологии ферментированного (кисломолочного) продукта для спортивного питания.

Ключевые слова: специализированный пищевой продукт для питания спортсменов, обогащенные продукты, пробиотики, иммобилизация, функциональный пищевой ингредиент

*The aim of the work is to scientifically justify the formulation of a probiotic food product for sports nutrition using a functional food ingredient. As a functional food ingredient, the association of probiotics (*Lactobacillus* and *bifidobacteria*) immobilized in a gel of biopolymers was studied. The main raw material used was cow's fat-free milk; as components that regulated the protein-carbohydrate composition of a multicomponent product, the whey protein isolate, natural honey and maltodextrin were chosen. A complex containing defibrated blood and an extract of reindeer antlers was used as an adaptogen of animal origin. In order to complement the qualitative and quantitative composition of vitamins and minerals, a premix containing 7 vitamins, calcium and iron was used. The process of obtaining a functional ingredient for fermenting a normalized mixture and enriching the product with viable probiotic cells is outlined. To protect them in the aggressive conditions of the technological process, as well as in the stomach and intestine, the process of immobilization by incorporating the association of probiotics into the gel of biopolymers was studied. The effectiveness of the delivery of the association of probiotic microorganisms immobilized in the gel of biopolymers was proved by carrying out studies in simulated conditions of the stomach and intestine. The functional food ingredient obtained experimentally was used for fermentation of a normalized mixture of components in the technology of a fermented (sour-milk) product for sport's nutrition.*

Keywords: functional food product, sport nutrition, fortified foods, probiotics, immobilization, functional food ingredient

«Питание является важнейшим фактором, интегрирующим здоровье человека с момента зачатия и в течение всей жизни», – подчеркнул академик РАН В.А. Тутельян, формируя основные составляющие принципы продовольственной безопасности страны [1].

О значимости здорового питания свидетельствуют приоритетные задачи государственной политики РФ по увеличению объема и расширению ассортимента важных категорий пищевых продуктов, обогащенных функциональными ингредиентами, специализированных и функциональных пищевых продуктов [2]. Разработаны и действуют законодательные и нормативные правовые документы, регламентирующие производство обогащенных, специализированных и функциональных пищевых продуктов в рамках организации здорового питания населения страны [3–5].

Одной из важнейших категорий специализированных пищевых продуктов являются продукты для лиц, систематически занимающихся физической культурой, фитнесом, любительским и профессиональным спортом. Современный спорт связан со значительными физическими и психологическими нагрузками. Устойчивость организма спортсмена к стрессовым ситуациям существенно повышается при рациональном питании, обеспечивающем адекватное поступление энергии и биологически активных веществ. В настоящее время все большую популярность приобретает точка зрения, что пищевой статус и структура питания спортсменов служат одним из главных факторов, определяющих уровень спортивных достижений. Адекватное питание –

одна из составляющих достижения высоких спортивных результатов, тогда как неадекватное поступление нутриентов в организм спортсмена в условиях интенсивных физических и нервно-психических нагрузок чревато весьма неблагоприятными последствиями не только для спортивной формы, но и для его здоровья. Для решения проблемы оптимального сбалансированного питания спортсменов необходимы разработка и внедрение в производство отечественных специализированных продуктов заданного состава (высокобелковые, высокоуглеводные, углеводно-минеральные и др.), которые должны способствовать увеличению работоспособности, выносливости, быстрейшему восстановлению организма спортсмена после физической нагрузки и, в конечном итоге, улучшению спортивных достижений [6, 7].

Продукты, предназначенные для питания спортсменов, должны не только снабжать организм необходимыми нутриентами, но и легко усваиваться, способствуя быстрому восстановлению энергии, затраченной во время тренировок и соревнований. В ассортименте таких продуктов одно из ведущих мест занимают ферментированные кисломолочные продукты, которые получают путем использования лакто- и бифидобактерий [8, 9].

Бактерии в процессе ферментации синтезируют небольшие количества витаминов (в частности, В₁₂, фолиевую кислоту, биотин), аминокислот и биологически активных пептидов. Бифидо- и лактобактерии имеют выраженную антагонистическую активность в отноше-

нии патогенных и условно-патогенных бактерий, способствуют поддержанию оптимального количественного и качественного состава кишечной микрофлоры, поэтому важно, чтобы они достигали кишечника в активном жизнеспособном состоянии.

Цель работы – научно обосновать рецептуру специализированного пробиотического пищевого продукта для питания спортсменов с использованием функционального пищевого ингредиента – ассоциации пробиотиков (лакто- и бифидобактерий), иммобилизованных в гель биополимеров.

Материал и методы

В качестве основного сырья использовалось молоко коровье сырое; в качестве компонентов, регулирующих белково-углеводный состав многокомпонентного продукта, были выбраны изолят сывороточных белков, мед натуральный (пчелиный), мальтодекстрин, а также использовались биологически активная добавка к пище «Пантогематоген Северный» (ЗАО «Фермент», РФ) с содержанием железа 275–325 мг/кг и витаминно-минеральный премикс «Валетек 7» (ЗАО «Валетек Продимпэкс», РФ).

Для исследования функционального пищевого ингредиента составлена ассоциативная закваска на основе культур *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*. Для иммобилизации в качестве носителя использовали биополимеры желатин пищевой, частично амидированный низкоэтерифицированный пектин (Гену® пектин LM-106 AS-YA) и крахмал в соотношении 5:1:1. Процесс микрокапсулирования проводили в микробиологическом боксе с системой очистки (TENCAN, Китай) на пилотной установке.

Деградация капсул была исследована в ходе имитации модели переваривания в желудочно-кишечном тракте. Модель желудочного сока: 2% водный раствор NaCl, pH 2,0 (1 М HCl), пепсин 3600 Ед/мл, температура 37 °С. Образцы инкубировали в водяной бане при постоянном встряхивании в течение 120 мин. Модель кишечного сока: 0,68% KH_2PO_4 ; 0,1% солей желчных кислот; 0,4% панкреатина, pH 7,5 (0,5 М NaOH), температура 37 °С [10].

Изучение морфологии микроорганизмов проводили методом микроскопирования фиксированных и окрашенных фуксином препаратов на микроскопе «Axioskop 40» (Carl Zeiss, Германия) при увеличении 10×63.

Повторность опытов 3–5-кратная. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica 6.1.

Результаты и обсуждение

Перспективным направлением в производстве специализированных продуктов для питания спортсменов

является повышение пищевой и биологической ценности продуктов путем направленного регулирования их химического состава. В свете этого разработка новых групп молочных продуктов, предназначенных для индивидуализации питания спортсменов в различные периоды тренировочных макроциклов, является актуальной [7].

В соответствии с классификацией продуктов для питания спортсменов [6], кисломолочный (ферментированный) продукт следует отнести к продуктам категории А, определяемых как богатые углеводами энергетические пищевые продукты (гейнеры). Компонентный состав такого продукта должен быть представлен, прежде всего, углеводами и белками. Целесообразно введение витаминов Е, С, группы В, минеральных веществ, таких как натрий, калий, фосфор, кальций и железо, а также функциональных ингредиентов: адаптогенов и пробиотиков.

На первом этапе, при проектировании рецептуры продукта белковый состав регулировали добавлением белков сыворотки молока. Для исследования был выбран изолят – высокоочищенная форма (90,0±0,5% белка), которая практически не содержит жира, холестерина и углеводов (лактоза). Изолят сывороточного белка имеет высокую концентрацию аминокислот с разветвленными боковыми цепочками (ВСAA), которые преобладают в метаболизме мышечной ткани. Они используются организмом в качестве источника энергии для сокращения мышц, а также строительного субстрата для построения мышечных волокон.

Углеводный состав продукта представлен сочетанием меда, содержащего легкоусвояемые сахара в сочетании с пыльцой и маточным молочком [11], и мальтодекстрина, также имеющего высокий гликемический индекс (от 105 до 136) и широко используемого в продуктах спортивного питания [12].

В качестве адаптогена животного происхождения, способствующего восстановлению организма спортсменов после усиленных нагрузок во время тренировок и соревнований [13], использовали дефибрированную кровь и экстракт пантов северного оленя. Для дополнения качественного и количественного состава витаминов и минеральных веществ, которые содержатся в молочной основе и других компонентах рецептуры [14], был использован витаминно-минеральный премикс [15], содержащий 7 витаминов, кальций и железо.

Опытно-экспериментальным путем установлено рациональное соотношение всех компонентов рецептуры нормализованной смеси (на 1000 кг продукта): молоко обезжиренное 849,6 кг; ферментный препарат 0,4 кг; изолят сывороточных белков 50 кг; адаптоген 30 кг; мед натуральный 50 кг; мальтодекстрин 15 кг; витаминно-минеральный премикс 5 кг.

Такой состав кисломолочного продукта обеспечивает соотношение белки / углеводы в нем 1,0:1,2, содержание витаминов (мг%): А – 1,23; Е – 0,3; В₁ – 0,29; В₂ – 0,27; В₃ – 0,4; В₆ – 0,41; РР – 3,3; С – 44 и минеральных веществ (мг%): К – 152; Са – 170; Na – 52; Р – 97; Mg – 17; Fe – 2,6.

На втором этапе исследовали получение пищевого функционального ингредиента для ферментации нормализованной смеси и обогащения продукта жизнеспособными клетками пробиотиков. В качестве их защиты в условиях технологического процесса производства, а также в желудке и кишечнике был изучен процесс иммобилизации путем включения микробных клеток в гель биополимеров.

Методы иммобилизации клеток можно разделить на 3 группы: связывание на твердом носителе; включение в пространственную структуру носителя и иммобилизация с использованием мембранной технологии. К методам мембранной технологии также относится микрокапсулирование. Внешняя оболочка микросфер, в которую заключена биомасса, представляет собой тонкую, непроницаемую для клеток, но проницаемую для растворенных веществ искусственную мембрану. Результаты исследований иммобилизации отдельных штаммов микроорганизмов, включая пробиотические культуры, представлены в литературе [16–20].

В данной работе изучался процесс иммобилизации ассоциации пробиотических культур *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* и термофильной культуры *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, характеристика которых представлена в табл. 1.

Для подготовки пищевого функционального ингредиента процесс иммобилизации микрокапсулированием проводили на пилотной установке в асептических условиях. Манипуляции проводили через специальные отверстия в следующей последовательности:

- активизация биомассы клеток пробиотических культур на стерилизованном и охлажденном до температуры 38 ± 1 °C обезжиренном молоке;
- подготовка смеси биополимеров в соответствии с рекомендациями фирмы-изготовителя;
- соединение суспензии активизированных пробиотических микроорганизмов в реакторе с раствором биополимеров при температуре 38 ± 1 °C;
- формирование микрокапсул и их фасование в стерильные флаконы.

Изучены микробиологические показатели ассоциации пробиотических микроорганизмов в активизированной форме: *L. Acidophilus* : *B. lactis* : *S. thermophilus* в соотношении 1:1:1 до иммобилизации (контроль) и после иммобилизации (опыт) (рис. 1).

Эффективность системы доставки пробиотических микроорганизмов, иммобилизованных методом микрокапсулирования, в желудочно-кишечный тракт исследовали в условиях, имитирующих процесс пищеварения в полости желудка и кишечника.

Таблица 1. Характеристика используемых пробиотических культур

Видовой состав	Концентрация живых клеток, КОЕ/г	Оптимальная температура ферментации, °C	Активная кислотность, ед. pH
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1×10^9	42 ± 2	5,5–5,8
<i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>	1×10^{10}	40 ± 5	6,0–6,5
<i>Bifidobacterium lactis</i>	1×10^{11}	37 ± 3	6,0–6,2

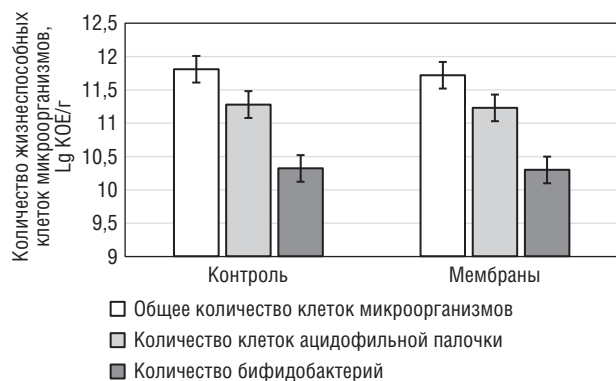


Рис. 1. Количество жизнеспособных клеток пробиотических культур, иммобилизованных в гель биополимеров

Значимым параметром, характеризующим микрокапсулы, является их способность к постепенному растворению, которая характеризуется временем распада и (или) скоростью растворения *in vitro*. Для твердых капсул под распадом понимается полное растворение в среде испытания (искусственном желудочном соке) при данной температуре ($36,5 \pm 0,5$ °C). Этот процесс распада должен завершаться за 30 мин согласно требованиям Европейской фармакопеи. Фактическая скорость растворения зависит от многих факторов – температуры, pH, смачиваемости, плотности частиц и др.

Поскольку была поставлена задача доставки в кишечник жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов, изучено изменение морфологии микрокапсул в условиях желудка (от 30 до 45 мин) и кишечника (60 мин). Для того чтобы оценить, насколько жизнеспособные клетки пробиотиков будут выпущены в желудочно-кишечной среде с различными условиями pH, ионной силы и ферментативной активности, определяли количество жизнеспособных клеток пробиотиков при различном времени деградации микрокапсул.

Установлено, что 20–25% жизнеспособных клеток пробиотиков было высвобождено из капсул в фазе «искусственный желудок», 75–80% – в фазе «искусственный кишечник».

Подтверждено, что использование геля на основе биополимеров: желатина пищевого, частично амидированного низкоэтерифицированного пектина и крахмала в качестве носителя (подложки) может служить для инкапсуляции жизнеспособных клеток пробиотиков. Капсулы имели наибольшую концентрацию биологически активных веществ, что говорит об их лучшей роли в качестве защитного компонента жизнеспособных клеток пробиотиков, а также их контролируемой доставки.

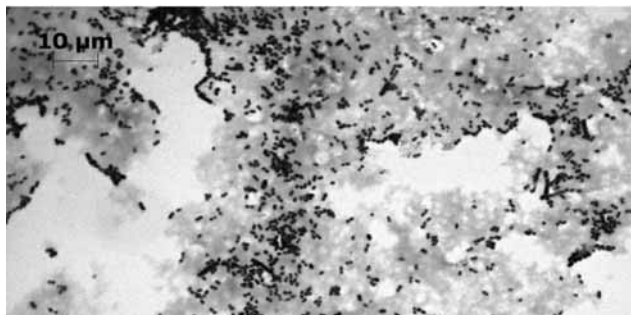


Рис. 2. Микроструктура ассоциации пробиотических культур *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, активизированных на стерилизованном и охлажденном до температуры 38 ± 1 °С обезжиренном молоке

Окрашивание по Граму, увеличение 10×63 .

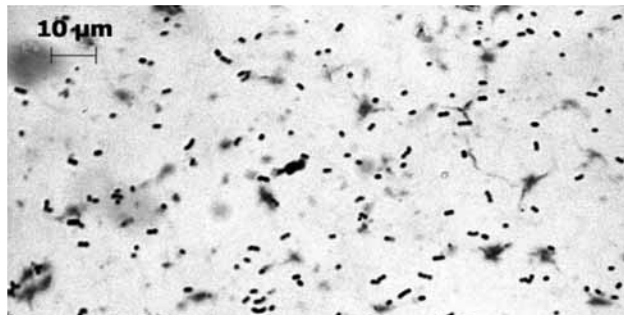


Рис. 3. Микроструктура ассоциации пробиотических культур *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, активизированных на стерилизованном и охлажденном до температуры 38 ± 1 °С обезжиренном молоке, иммобилизованной в раствор биополимеров при температуре 38 ± 1 °С

Окрашивание по Граму, увеличение 10×63 .

Таблица 2. Степень устойчивости иммобилизованных клеток микроорганизмов к модельным условиям желудка и кишечника ($M\pm m$)

Степень устойчивости	Контроль	Опыт (мембраны)
К желчи, %	$30,0\pm 0,1$	$40,0\pm 0,1$
К фенолу, %	$0,4\pm 0,1$	$0,4\pm 0,1$
К NaCl, %	$6,5\pm 0,1$	$4,0\pm 0,1$
К щелочной реакции среды, ед. pH	8,3–9,6	8,3–9,2

Результаты изучения морфологии микроорганизмов методом микроскопирования представлены на рис. 2 и 3.

Анализ данных, представленных на рис. 2 и 3, свидетельствует о том, что при включении клеток микроорганизмов в гель они располагаются равномерно, отсутствуют крупные скопления клеток. Это способствует сохранению высокой активности и стабильности клеток микроорганизмов в процессе ферментации.

Не менее важным критерием пробиотических свойств культур является способность микроорганизмов выживать в желудочно-кишечном тракте человека. В связи с этим были проведены исследования по изучению устойчивости иммобилизованных клеток микроорганизмов к желчи, NaCl и щелочной реакции среды, т.е. к модельным условиям желудка и кишечника. Результаты исследований представлены в табл. 2.

Иммобилизованные клетки микроорганизмов проявили устойчивость к исследуемым концентрациям тест-веществ, что может рассматриваться как косвенный

показатель способности иммобилизованных клеток микроорганизмов приживаться в желудочно-кишечном тракте человека. Предположительно, такая закономерность прослеживается за счет наибольшего количества ассоциированных компонентов (белки, полисахариды) клеточных стенок микроорганизмов, содержащих пектины, которые комплементарны соответствующим рецепторам, расположенным на мембранах эпителиальных клеток. Именно пектины, соединения белковой или гликопротеиновой природы, проявляющие специфическую и обратимую углеводосвязывающую активность, являются медиаторами адгезии, обеспечивая поддержание жизнеспособности пробиотических клеток микроорганизмов в микрокапсулированном виде.

Полученный экспериментальным путем функциональный пищевой ингредиент использовали для ферментации нормализованной смеси компонентов. Готовый кисломолочный продукт содержал не менее 1×10^8 КОЕ/г пробиотических микроорганизмов в соответствии с требованиями ГОСТ Р55577-2013 [4].

Новизна разработки функционального пищевого ингредиента отражена в патенте РФ № 2588465 [21], технология ферментированного (кисломолочного) продукта для специализированного (спортивного) питания защищена патентом РФ № 2538151 [22].

Таким образом, в результате проведенных исследований дано научное обоснование компонентного состава ферментированного (кисломолочного) продукта, предназначенного для специализированного (спортивного) питания.

Сведения об авторах

Гаврилова Наталья Борисовна – доктор технических наук, профессор кафедры продуктов питания и пищевой биотехнологии ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина»

E-mail: gavrilov49@mail.ru

Щетинин Михаил Павлович – доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой технологии продуктов питания ФГБОУ ВО «Алтайский государственный технический университет им. И.П. Ползунова» (Барнаул)

E-mail: lifedea@mail.ru

Чернопольская Наталья Леонидовна – кандидат технических наук, доцент кафедры продуктов питания и пищевой биотехнологии ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина»
E-mail: nl.chernopolskaya@omgau.org

Литература

- Гордеев А.В. и др. Продовольственная независимость России : в 2 т. Т. 1. М. : Технология ЦД, 2016. 560 с.
- Основы государственной политики Российской Федерации в области здорового питания населения на период до 2020 года. Утверждены распоряжением правительства РФ от 25 октября 2010 г. № 1873-р.
- Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011) с приложениями. Принят 9.12.2011 г. № 880.
- ГОСТ Р 55577-2013 Продукты пищевые функциональные. Информация об отличительных признаках и эффективности.
- Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013) с приложениями. Принят 9.10.2013 г. № 67.
- Гаврилова Н.Б., Щетинин М.П., Молибога Е.А. Современное состояние и перспективы развития производства специализированных продуктов для питания спортсменов // *Вопр. питания*. 2017. Т. 86, № 2. С. 108–114.
- Трофимов И.Е. Исследование и разработка технологии белково-углеводного кисломолочного продукта для специализированного питания : дис. ... канд. техн. наук. Кемерово, 2016. 149 с.
- Гаврилова Н.Б. Щетинин М.П. Технология молока и молочных продуктов: традиции и инновации. М. : КолосС, 2012. 544 с.
- Гаврилова Н.Б. Биотехнология комбинированных молочных продуктов. Омск : Вариант-Сибирь, 2004. 224 с.
- Фиалков Д.М., Артюхова С.И., Жидкова О.Н. Методы исследования свойств сырья и молочных продуктов. Омск : ФГОУ ВПО ОмГАУ, 2004. 232 с.
- Иванова И.К., Шиц Е.Ю., Корякина В.В. Определение аутентичности и термической преобразованности продуктов пчеловодства методом ЯМР-спектроскопии // *Вопр. питания*. 2013. Т. 82, № 3. С. 72–76.
- Бастриков И.А. Медико-биологические аспекты создания и применения специализированных белково-углеводных продуктов питания для спортсменов // *Вопр. питания*. 2009. Т. 78, № 6. С. 49–57.
- Первушин В.В., Бакуменко О.Е. Биологически активные вещества, повышающие адаптацию к физической нагрузке // *Пищ. пром-сть*. 2011. № 10. С. 73–74.
- Гаврилова Н.Б., Чернопольская Н.Л., Трофимов И.Е. Разработка технологии ферментированного продукта для специализированного питания // *Материалы IX международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» 20–22 февраля*. М. : Гостинный Двор, 2017. С. 302–304.
- Шатнюк Л.Н., Михеева Г.А., Некрасова Т.Э., Коденцова В.М. Витаминно-минеральные премиксы в технологиях продуктов здорового питания // *Пищ. пром-сть*. 2014. № 6. С. 42–47.
- Belma A. The effect of immobilization on some probiotic properties of *Streptococcus thermophilus* strains // *Ann. Microbiol.* 2009. Vol. 59, N 1. P. 127–132.
- Chassy B.M. Gene transfer and advances in the molecular genetics of *Lactobacilli* // 6th Intern. Symp. Lactic Acid Bacteria and Human Health (1989, August 30). Seul : R & D Center, Korea Yakult Co. Ltd., 1998. P. 245–273.
- Gregory K. Charlene M. Mello Immobilization of *Escherichia coli* cells by use of the antimicrobial peptide cecropin P1 // *Appl. Environ. Microbiol.* 2005. Vol. 71, N 3. P. 1130–1134.
- Recept A. Efficient immobilization and patterning of live bacterial cells // *Author Manuscript: available in PMC*. 1998. Vol. 15. P. 1–17.
- Tommaso G. Varesche M. Morphological observation and microbial population dynamics in anaerobic polyurethane foam // *Braz. J. Chem. Eng.* 2004. Vol. 3. P. 87–92.
- Пат. 2588465, Российская Федерация, МПК C12N 1/20(2006.01), C12N 11/04(2006.01), C12N 11/10(2006.01), A61K 35/744(2015.01), A61K 35/745(2015.01) A61K 35/747(2015.01) Способ приготовления препарата из живых штаммов микроорганизмов лакто- и бифидобактерий / Гаврилова Н.Б., Чернопольская Н.Л. : заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина». № 2014123874/10 ; заявл. 10.06.2014 ; опубл. 20.12.2015, Бюл. № 35.
- Пат. 2538151, Российская Федерация, МПК A23C 9/13 (2006.01). Композиция для получения молочно-белкового биококтейля / Гаврилова Н.Б., Трофимов И.Е., Коновалов С.А., Чернопольская Н.Л. : заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина». № 2013111568/10 ; заявл. 14.03.2013 ; опубл. 10.01.2015, Бюл. № 1.

References

- Gordeev A.V., et al. Food independence of Russia: In 2 vols. Vol. 1. Moscow: Technologia CD, 2016: 560 p. (in Russian)
- The fundamentals of the state policy of the Russian Federation in the field of healthy nutrition of the population for the period until 2020. Approved by the decree of the Government of the Russian Federation of October 25, 2010, N 1873-r (in Russian)
- Technical regulations of the Customs Union «On Food Safety» (TR TS 021/2011) Foodstuffs functional with applications. Adopted on December 9, 2011, N 880. (in Russian)
- GOST R 55577-2013 Functional food products. Information on the distinctive features and effectiveness. (in Russian)
- Technical regulations of the Customs Union «On the safety of milk and dairy products» (TR TC 033/2013) with applications. Adopted on October 9, 2013, N 67. (in Russian)
- Gavrilova N.B., Shchetinin M.P., Moliboga E.A. The current state and prospects for the development of the production of specialized products for the nutrition of athletes. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2017; 86 (2): 108–14. (in Russian)
- Trofimov I.E. Research and development of protein-carbohydrate sour-milk product for specialized nutrition: Diss. Kemerovo, 2016: 149 p. (in Russian)
- Gavrilova N.B. Shchetinin M.P. Technology of milk and dairy products: traditions and innovations. Moscow: ColosS, 2012. 544 p. (in Russian)
- Gavrilova N.B. Biotechnology of combined dairy products. Omsk: Variant-Sibir', 2004: 224 p. (in Russian)
- Fialkov D.M., Artyukhova S.I., Zhidkova O.N. Methods for studying the properties of raw materials and dairy products. Omsk: Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, 2004: 232 p. (in Russian)
- Ivanova I.K., Shits E.Yu., Koryakina V.V. Determination of authenticity and thermal transformation of bee products by YAMR-spectroscopy. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2013; 82 (3): 72–6. (in Russian)
- Bastrikov I.A. Medico-biological aspects of the creation and application of specialized protein-carbohydrate food products for athletes.

- Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]. 2009; 78 (6): 49–57. (in Russian)
13. Pervushin V.V., Bakumenko O.E. Biologically active substances that increase adaptation to physical activity. *Pishevaya promyshlennost' [Food Industry]*. 2011; (10): 73–4. (in Russian)
 14. Gavrilova N.B., Chernopolskaya N.L., Trofimov I.E. Development of the technology of a fermented product for specialized nutrition. In: *Proceedings of the IX International Congress «Biotechnology: State and Prospects for Development» February 20–22. Moscow. Gostiny Dvor, 2017: 302–4. (in Russian)*
 15. Shatnyuk L.N., Mikheeva G.A., Nekrasova T.E., Kodentsova V.M. Vitamin and mineral premixes in healthy food technologies. *Pishevaya promyshlennost' [Food Industry]*. 2014; (6): 42–7. (in Russian)
 16. Belma A. The effect of immobilization on some probiotic properties of *Streptococcus thermophilus* strains. *Ann Microbiol.* 2009; 59 (1): 127–32.
 17. Chassy B.M. Gene transfer and advances in the molecular genetics of *Lactobacilli*. In: *6th Intern. Symp. Lactic Acid Bacteria and Human Health (1989, August 30). Seoul: R & D Center, Korea Yakult Co. Ltd., 1998: 245–73.*
 18. Gregory K. Charlene M. MelloImmobilization of *Escherichia coli* cells by use of the antimicrobial peptide cecropin P1. *Appl Environ Microbiol.* 2005; 71 (3): 1130–4.
 19. Recept A. Efficient immobilization and patterning of live bacterial cells. Author Manuscript: available in PMC. 1998: 15: 1–17.
 20. Tommaso G. Varesche M. Morphological observation and microbial population dynamics in anaerobic polyurethane foam. *Braz J Chem. Eng.* 2004; 3: 87–92.
 21. Pat. 2588465, Russian Federation, IPC C12N 1/20 (2006.01), C12N 11/04 (2006.01), C12N 11/10 (2006.01), A61K 35/744 (2015.01), A61K 35/745 (2015.01) A61K 35/747 2015.01) Method of preparation preparation from living strains of microorganisms of lacto and bifidobacteria. Gavrilova N.B., Chernopolskaya N.L. Applicant and patent holder of Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin. N 2014123874/10; Claimed. 06/10/2014; Publ. 12/20/2015, Bul. No. 35. (in Russian)
 22. Pat. 2538151, Russian Federation, IPC A23C 9/13 (2006.01). Composition for Milk-Protein Bio-Cocktail. Gavrilova N.B., Trofimov I.E., Kononov S.A., Chernopolskaya N.L. Applicant and patent holder of the Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin. N 2013111568/10; Claimed. 03/14/2013; Publ. 01/10/2015, Byul. N 1. (in Russian)

Для корреспонденции

Тышко Надежда Валерьевна – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией оценки безопасности биотехнологий и новых источников пищи
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»
Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский пр., д. 2/14
Телефон: (495) 698-53-64
E-mail: tnv@ion.ru

Тышко Н.В.

Контроль за генно-инженерно-модифицированными организмами растительного происхождения в пищевой продукции: научное обоснование и методическое обеспечение

Control over genetically-modified sources of plant origin in food: scientific basis and methodical maintenance

Tyshko N.V.

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва
Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow

В статье представлены данные об объемах мирового производства генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения (ГМО), а также изложены основные принципы организации и методического обеспечения системы контроля за ГМО в Российской Федерации в условиях общемировой тенденции увеличения использования такой продукции. Результаты мониторинга за оборотом ГМО на продовольственном рынке РФ, проведенного учреждениями системы Роспотребнадзора в 2003–2016 гг. (всего было выполнено более 300 тыс. исследований пищевых продуктов), свидетельствуют о снижении распространенности такой продукции: в 2003–2004 гг. доля продукции, содержащей ГМО, составляла 11–12% от всей продукции, имеющей генно-инженерно-модифицированные аналоги, в 2010 г. – 0,16%, в 2016 г. – менее 0,1%.

Ключевые слова: генно-инженерно-модифицированные организмы растительного происхождения, ГМО, контроль за ГМО, полимеразная цепная реакция

The article presents data on global production of genetically modified organisms of plant origin (GMO), as well as on basic principles of organizing and methodical maintenance of the GMO control system in the framework of worldwide trend to increasing usage of such products. The results of GMO turnover monitoring, that was conducted by Rospotrebnadzor in 2003–2016 (there were made more than 300 000 analysis), indicate a decrease of such products usage: from 10–12% in 2003–2004 to less than 0.1% to in 2016.

Keywords: genetically-modified food sources of plant origin, GMO, control over GMO, polymerase chain reaction

Для цитирования: Тышко Н.В. Контроль за генно-инженерно-модифицированными организмами растительного происхождения в пищевой продукции: научное обоснование и методическое обеспечение // *Вопр. питания.* 2017. Т. 86. № 5. С. 29–33.

Статья поступила в редакцию 24.07.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Tyshko N.V. Control over genetically-modified sources of plant origin in food: scientific basis and methodical maintenance. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition].* 2017; 86 (5): 29–33. (in Russian)

Received 24.07.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

Научный прогресс в области молекулярной биологии позволил создать новые методы селекционной работы, основанной на направленной модификации генома растений. С 1996 по 2016 г. мировые площади посевов генно-инженерно-модифицированных (ГМ) культур возросли более чем в 100 раз, достигнув 185,1 млн га [1], что составляет порядка 12% от площади всех возделываемых в мире земель. По ситуации на середину 2017 г., ГМ аналоги имеют 28 видов растений продовольственного и хозяйственного назначения, общее количество существующих ГМ линий составляет 495, из них 462 линии сельскохозяйственных растений. Основными ГМ культурами являются соя, посевы которой занимают 91,4 млн га [49% от общей площади посевов генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения (ГМО) и 78% от общей площади посевов сои], кукуруза – 60,6 млн га (соответственно 33 и 33%), хлопок – 22,3 млн га (12 и 64%), рапс – 8,6 млн га (5 и 24%) [1, 2]. В общей структуре мирового производства ГМО соя, кукуруза, рапс и хлопок составляют примерно 99%, на долю прочих культур приходится не более 1% (табл. 1).

Таблица 1. Перечень сельскохозяйственных растений, имеющих генно-инженерно-модифицированные (ГМ) аналоги*

Культура	Количество ГМ линий
<i>Продовольственное назначение</i>	
Баклажаны	1
Бобы	1
Дыня	2
Кабачковые	2
Картофель	47
Кукуруза	231
Папайя	4
Пшеница	1
Рапс	43
Рис	7
Сахарная свекла	3
Сахарный тростник	3
Сладкий перец	1
Слива	1
Соя	36
Томаты	11
Цикорий	3
Яблоки	3
<i>Хозяйственное назначение</i>	
Гвоздика	19
Лен	5
Люцерна	1
Петуния	1
Полевица ползучая	1
Розы	2
Табак	2
Тополь	2
Хлопок	58
Эвкалипт	1

* – серым цветом выделены основные ГМ культуры, производящиеся в промышленных масштабах.

В Российской Федерации прошли государственную регистрацию и разрешены для использования в пищу ГМ линии сои, кукурузы, риса и сахарной свеклы (табл. 2).

В настоящее время, согласно существующей неофициальной классификации, ГМО растительного происхождения подразделяют на культуры первого, второго, третьего и последующих поколений. Представленные на мировом продовольственном рынке ГМ культуры первого поколения, созданные с 1994 по 2004 г., обладают улучшенными по сравнению с их традиционными аналогами агрономическими свойствами, такими как устойчивость к пестицидам, вредителям, вирусам, грибковым инфекциям, а также новыми потребительскими качествами. В начале 2000-х гг. предполагалось [3], что ГМО второго и последующих поколений будут характеризоваться, помимо измененных агрономических характеристик, пролонгированным сроком хранения, повышенной пищевой ценностью и вкусовыми свойствами, отсутствием аллергенов, способностью к продуцированию иммунных препаратов и лекарств, изменением времени цветения и плодоношения, изменением размера, формы и количества плодов, повышением эффективности фотосинтеза, продуцированием пищевых веществ с повышенным уровнем ассимиляции и т.п. Однако большинство ГМ культур второго поколения по своим характеристикам практически аналогичны ГМО первого поколения, разница между ними заключается лишь в использовании более современных, усовершенствованных методов трансформации генома растений, позволяющих избежать использования генов устойчивости к антибиотикам в качестве маркеров модификации, а также в применении регуляторных элементов транскрипции (промоторов и терминаторов) [4, 5]. Кроме того, значительное количество ГМ культур второго поколения представлено так называемыми гибридными стеками (от англ. breeding stacks), полученными в результате традиционного скрещивания 2 и более линий ГМО и характеризующимися комбинацией признаков, присущих родительским ГМ линиям. Таким образом, данная неофициальная классификация в большей степени касается процесса совершенствования технологии создания ГМО; несмотря на достаточно широкое использование, она весьма условна и не позволяет однозначно разделять классифицируемые объекты в соответствии с их специфическими свойствами [5–7]. Исходя из наметившихся тенденций развития методов геномной инженерии, многие ГМО третьего поколения будут получены с помощью системы направленного редактирования геномов (CRISPR/Cas9). Внедрение новых технологий, размывающих границы между ГМ и традиционными организмами, обуславливает целый ряд сложностей, связанных с созданием правового поля, регламентирующего официальный статус получаемой продукции (будет ли она признана ГМО и будут ли распространяться все соответствующие ограничения, касающиеся ГМО, на эту продукцию). Выработка механизмов законодательного регулирования

ния биотехнологической продукции третьего и последующих поколений требует отдельного рассмотрения. Если ограничения, введенные Федеральным законом № 358-ФЗ от 03.07.2016 (запрет выращивания ГМО, запрет использования ГМ семенного материала на территории РФ), не затронут продукцию, получаемую с помощью CRISPR/Cas9 системы, это направление науки ожидает бурный рост, сопровождающийся внедрением новых методов в практику селекционной работы и созданием новых хозяйственно-ценных и высокоурожайных сортов растений, а также пород животных и штаммов микроорганизмов.

В условиях общемировой тенденции увеличения использования ГМО система контроля за оборотом ГМО является гарантией обеспечения необходимого уровня безопасности для населения в странах, импортирующих продовольствие. Система контроля за ГМО на продовольственном рынке РФ разработана на основании фундаментальных исследований, проведенных РАН, РАНХ, РАСХН, и внедрена в практику Роспотребнадзора, агропромышленного комплекса страны, таможенной службы и других заинтересованных ведомств [7, 8].

Методическая база включает самые современные методы, основанные на проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР). По мере разработки методов выявления и идентификации ГМО в образцах пищевой продукции совершенствовалась и система контроля. Начиная с 2000 г. были разработаны 5 методических документов, регламентирующих порядок и организацию контроля за пищевой продукцией, содержащей ГМО, методы пробоподготовки, протоколы проведения ПЦР, методы визуализации результатов исследований, алгоритмы интерпретации полученных данных [9–13].

Алгоритм контроля за ГМО включает 2 последовательных этапа, первый из них направлен на выявление рекомбинантных регуляторных последовательностей (промотора 35S и терминатора NOS, которые присутствуют практически у 100% ГМ линий, созданных до 2008 г.), второй этап – на идентификацию конкретной ГМ линии и количественное определение ГМО в образце (см. схему). За 2003–2016 гг. учреждениями системы Роспотребнадзора проведено более 300 тыс. исследований пищевых продуктов в рамках контроля за оборотом ГМО.

Согласно результатам мониторинга, распространенность ГМ продуктов в Российской Федерации за последние годы значительно снизилась: в 2003–2004 гг. доля продукции из ГМО составляла 11–12% от всей продукции, имеющей ГМ аналоги, в 2010 г. – 0,16%, в 2016 г. – менее 0,1%. Такая тенденция свидетельствует об отказе производителей от использования биотехнологического сырья: чаще всего происходит замена полноценного растительного белка (сои) при производстве мясных и колбасных изделий на плохо усваиваемые соединительнотканые белки или крахмалсодержащие компоненты, что снижает пищевую ценность продуктов

Таблица 2. Генно-инженерно-модифицированные организмы растительного происхождения, прошедшие государственную регистрацию в Российской Федерации и разрешенные для использования при производстве пищевой продукции

Перечень линий	Год регистрации
Соя, линия 40-3-2	1999
Соя, линия A2704-12	2002
Соя, линия A5547-127	2002
Соя, линия MON 89788	2010
Соя, линия BPS-CV127-9	2012
Соя, линия MON 87701	2013
Соя, линия FG72	2015
Соя, линия SYHT0H2	2016
Соя, линия MON87701×MON89788	2016
Всего 9 линий сои	
Кукуруза, линия MON810	2000
Кукуруза, линия GA21	2000
Кукуруза, линия NK603	2002
Кукуруза, линия T25	2001
Кукуруза, линия MON863	2003
Кукуруза, линия Bt-11	2003
Кукуруза, линия MON88017	2007
Кукуруза, линия MIR604	2007
Кукуруза, линия 3272	2010
Кукуруза, линия MIR162	2011
Кукуруза, линия 5307	2014
Кукуруза, линия MON89034	2014
Кукуруза, линия 1507	2017
Всего 13 линий кукурузы	
Рис, линия LL62	2003
Сахарная свекла, линия H7-1	2006

примерно на 20%. Принимая во внимание, что колбасные изделия традиционно являются существенным источником белка в структуре питания населения России (например, за первое полугодие 2011 г. было потреблено 1 175,3 тыс. тонн), отказ от использования биотехнологического сырья вносит вклад в снижение потребления полноценного белка, в результате чего сильнее нарушается баланс белков/жиров/углеводов в рационах россиян [14].

На протяжении 2003–2014 гг. действующая система контроля позволяла полностью контролировать оборот ГМО на продовольственном рынке РФ. Однако развитие генной инженерии привело к появлению биотехнологических культур второго поколения, в том числе культур с комбинированными признаками, ДНК которых или не содержит регуляторных последовательностей, или это принципиально новые последовательности, выявление которых требует отдельных длительных исследований. Такие ГМ культуры потенциально могли присутствовать на рынке и оставаться неидентифицированными в рамках рутинного контроля за оборотом ГМО.

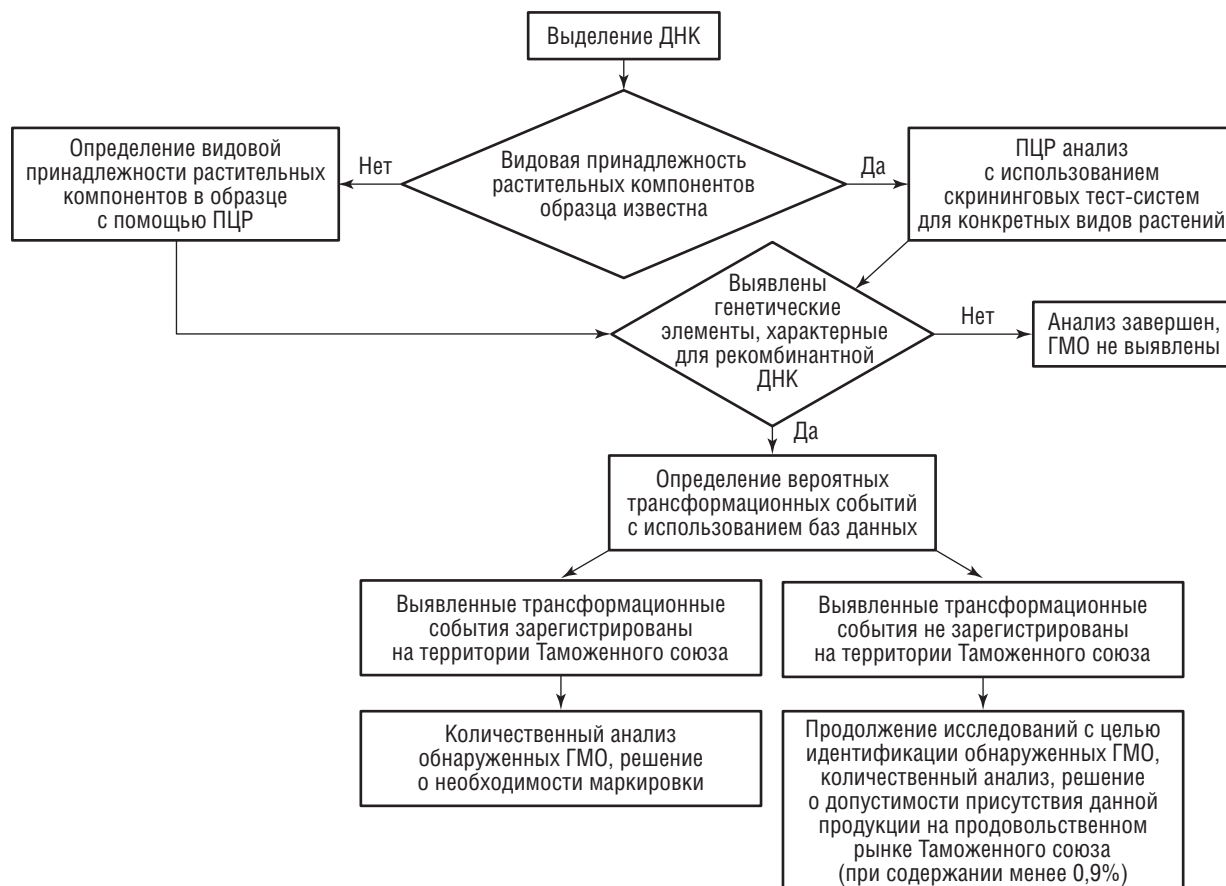
Для предотвращения риска снижения эффективности контроля за ГМО потребовалась интеграция усилий

различных отделений РАН, были проведены интенсивные исследования в области создания методической и приборной базы, способной обеспечить надлежащий уровень контроля за оборотом новых поколений ГМО. В результате проделанной работы был создан новый оригинальный формат ПЦР – предварительно подготовленные, свободно конфигурируемые ПЦР-матрицы и оптимизированные тест-системы, позволяющие выявлять и идентифицировать большинство известных линий ГМО в рамках одного анализа. Значительная часть используемых в этих тест-системах специфических реактивов (праймеры, ДНК-зонды) широко апробированы и используются для выявления и идентификации ГМО. Технические особенности проведения ПЦР с использованием ПЦР-матриц дают возможность значительно (в 2–3 раза) сократить время проведения реакции за счет существенного увеличения скорости термочиклирования, а также снизить расход реактивов за счет уменьшения реакционного объема (со стандартных 20–30 мкл до 1,2 мкл). Для упрощения интерпретации и систематизации полученных результатов была сформирована специализированная база данных трансформационных событий и генетических элементов, позволяющая определить линии ГМО, присутствие которых в исследуемом образце наиболее вероятно.

Применение предложенной модификации ПЦР с использованием ПЦР-матриц позволит существенно расширить спектр одномоментно детектируемых объектов, повысить удобство, скорость работы и увеличить производительность ПЦР-лабораторий, осуществляющих исследования в области контроля за оборотом ГМО. Алгоритм проведения исследований в новом формате и требования к реактивам и оборудованию были обобщены в новых методических указаниях, утвержденных Главным государственным санитарным врачом РФ, и внедрены в практику Роспотребнадзора [15].

Усовершенствованная система контроля позволит как предотвращать попадание незарегистрированных ГМО на российский продовольственный рынок, так и обеспечивать достоверность маркировки пищевой продукции.

Современный подход к маркировке ГМ пищевой продукции осуществляется с учетом требований российской общественности и действующих международных норм. Маркировка, введенная в 1999 г. в качестве рекомендательной меры (постановление Главного государственного санитарного врача РФ № 13 от 08.04 1999), уже к 2002 г. приняла обязательный характер. Установленный ею порог снизился с 5% в 2002 г. до 0,9% в 2007 г., став нормой, гармонизированной с аналогичной в странах Европейского союза (СанПиН 2.3.2.2227-07,



Общая схема лабораторных исследований пищевой продукции в рамках контроля за генно-инженерно-модифицированными организмами растительного происхождения

Расшифровка аббревиатур дана в тексте.

Федеральный закон «О внесении изменений в закон Российской Федерации “О защите прав потребителей”» № 234-ФЗ от 25.10. 2007, Технический регламент ТС 022/2011).

Таким образом, к настоящему времени в России проведены обширные научные исследования, целью которых являлось обеспечение эффективного контроля за ГМО первого и второго поколений, накоплен значительный фактический материал, создана нормативно-методическая база и существенный задел для дальнейших фундаментальных и прикладных научных исследований, а также реализована возможность использования ГМО

для производства пищевых продуктов в рамках действующего законодательства. Вместе с тем тенденции развития новейших биотехнологий обуславливают необходимость в систематической разработке новых методических подходов для контроля за ГМО. Такие исследования должны проводиться в опережающем режиме на основе интеграции усилий не только ученых медицинского и биологического профиля, но и специалистов в области информатики, аналитической химии и других направлений.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 16-16-04123).

Литература

1. ISAAA. 2016. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2016. ISAAA Brief No. 52. ISAAA. Ithaca, NY, 2016. 125 p.
2. URL: <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/default.asp>.
3. Vasil I.K. The science and politics of plant biotechnology – a personal perspective // Nat. Biotechnol. 2003. Vol. 21, N 8. P. 849–851.
4. Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. EFSA, 2011. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) // EFSA J. 2011. Vol. 9, N 5. P. 2150–2137.
5. Jaffe G. Regulating transgenic crops: a comparative analysis of different regulatory processes // Transgenic Res. 2004. Vol. 13. P. 5–19.
6. Tzotzos G.T., Head G.P., Hull R. Genetically Modified Plants. Assessing Safety and Managing Risk. London : Elsevier; Academic Press, 2009. 244 p.
7. Tutelyan V.A. (ed.). Genetically Modified Food Sources. Safety Assessment and Control. Elsevier; Academic Press, 2013. 338 p.
8. Тутьельян В.А. Генетически модифицированные источники пищи: оценка безопасности и контроль. М. : Изд-во РАМН, 2007. 444 с.
9. Методические указания МУ 2.3.2.1917-04 «Порядок и организация контроля за пищевой продукцией, полученной из/или с использованием сырья растительного происхождения, имеющего генетически модифицированные аналоги».
10. Методические указания МУК 4.2.2304-07 «Методы идентификации и количественного определения генно-инженерно-модифицированных организмов растительного происхождения».
11. Методические указания МУК 4.2.3105-13 «Порядок и методы идентификации и количественного определения в пищевых продуктах ГМО, полученных с использованием новых биотехнологий».
12. Методические указания МУК 4.2.3309-15 «Методы идентификации и количественного определения новых линий ГМО 2-го поколения в пищевых продуктах».
13. Методические указания МУК 4.2.3389-16 «Валидация методов, предназначенных для выявления и идентификации генно-инженерно-модифицированных организмов в пищевых продуктах и продовольственном сырье».
14. Официальный сайт Росстата России. URL: <http://www.gks.ru>.
15. Методические указания МУК 4.2.3390-16. «Детекция и идентификация ГМО растительного происхождения методом полимеразной цепной реакции в матричном формате».

References

1. ISAAA. 2016. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2016. ISAAA Brief No. 52. ISAAA. Ithaca, NY, 2016. 125 p.
2. URL: <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/default.asp>.
3. Vasil I.K. The science and politics of plant biotechnology – a personal perspective. Nat Biotechnol. 2003; 21 (8): 849–51.
4. Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. EFSA, 2011. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). EFSA J. 2011; 9 (5): 2150–37.
5. Jaffe G. Regulating transgenic crops: a comparative analysis of different regulatory processes. Transgenic Res. 2004; 13: 5–19.
6. Tzotzos G.T., Head G.P., Hull R. Genetically modified plants. Assessing safety and managing risk. London: Elsevier; Academic Press, 2009: 244 p.
7. Tutelyan V.A. (ed.). Genetically modified food sources. Safety assessment and control. Elsevier; Academic Press, 2013: 338 p.
8. Tutelyan V.A. Genetically Modified Food Sources: Safety Assessment and Control. Moscow: Izdatel'stvo RAMN, 2007: 444 p. (in Russian)
9. Methodical Guidelines MU 2.3.2.1917-04 «The procedure and organization of control over food products derived from/or with the use of raw materials of plant origin, which have genetically modified analogues». (in Russian)
10. Methodical Guidelines MU 4.2.2304-07 «Methods of identification and quantitative determination of genetically modified organisms of plant origin». (in Russian)
11. Methodical Guidelines MU 4.2.3105-13 «The procedure and methods of novel GMO identification and quantitative determination in food products». (in Russian)
12. Methodical Guidelines MU 4.2.3309-15 «Methods of identification and quantitative determination of 2nd generation GMO in foods». (in Russian)
13. Methodical Guidelines MU 4.2.3389-16 «The validation of methods for detection and identification of genetically modified organisms in food products and food raw materials The validation of methods for detection and identification of genetically modified organisms in food products and food raw materials». (in Russian)
14. The Official site of Federal State Statistic Service. URL: <http://www.gks.ru> (in Russian)
15. Methodical Guidelines MU 4.2.3390-16 «Detection and identification of GMOs of plant origin by polymerase chain reaction in matrix format». (in Russian)

Для корреспонденции

Ефимочкина Наталья Рамазановна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14

Телефон: (495) 698-53-83

E-mail: karlikanova@ion.ru

Ефимочкина Н.Р., Пичугина Т.В., Стеценко В.В., Быкова И.Б., Маркова Ю.М.,
Короткевич Ю.В., Полянина А.С., Шевелева С.А.

Оптимизация методов контроля пищевых продуктов на основе создания дифференциально-диагностических сред для выделения и культивирования бактерий рода *Campylobacter*

Optimization of microbiological methods for food control based on the differential-diagnostic media for the isolation and cultivation of bacteria of the genus *Campylobacter*

Efimochkina N.R., Pichugina T.V.,
Stetsenko V.V., Bykova I.B.,
Markova Yu.M., Korotkevich Yu.V.,
Polyanina A.S., Sheveleva S.A.

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва
Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
Moscow

*Проведены скрининговые исследования по выделению кампилобактерий из продуктов, полуфабрикатов и объектов внешней среды предприятий птицеперерабатывающей промышленности. Наиболее высокий уровень обнаружения возбудителей кампилобактериоза установлен для сырых птицепродуктов, включая тушки цыплят-бройлеров, индеек, перепелов и производимых из них полуфабрикатов. Выявлена общая закономерность попадания кампилобактеров в сырье и пищевые продукты при недостаточной эффективности санитарной обработки отдельных участков производства: в большинстве случаев *Campylobacter spp.* выделяли из образцов, обсемененных колиформными бактериями и сальмонеллами. Показано, что частота контаминации сырых птицепродуктов патогенами в значительной мере зависит от технологии охлаждения тушек. При использовании погружного способа создаются условия для перекрестной контаминации патогенами через воду в ваннах охлаждения (45% проб, зараженных *Campylobacter spp.*). При комбинированном использовании переохлажденной воды и гидроаэрозолей кампилобактерии также выявляли достаточно часто – в 27% проб. Контаминация патогенами была наименьшей при испарительном способе охлаждения с использованием антимикробных гидроаэрозолей (<5% положительных проб), что позволяет признать его наиболее перспективным для производства безопасной в микробиологическом отношении продукции. Проведена работа по оптимизации состава питательных сред и адаптации рекомендуемых методических схем анализа для выявления и видовой идентификации бактерий рода *Campylobacter*. Модифицированы рецептуры традиционно*

Для цитирования: Ефимочкина Н.Р., Пичугина Т.В., Стеценко В.В., Быкова И.Б., Маркова Ю.М., Короткевич Ю.В., Полянина А.С., Шевелева С.А. Оптимизация методов контроля пищевых продуктов на основе создания дифференциально-диагностических сред для выделения и культивирования бактерий рода *Campylobacter* // Вопросы питания. 2017. Т. 86. № 5. С. 34–41.

Статья поступила в редакцию 12.06.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Efimochkina N.R., Pichugina T.V., Stetsenko V.V., Bykova I.B., Markova Yu.M., Korotkevich Yu.V., Polyanina A.S., Sheveleva S.A. Optimization of microbiological methods for food control based on the differential-diagnostic media for the isolation and cultivation of bacteria of the genus *Campylobacter*. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2017; 86 (5): 34–41. (in Russian)

Received 12.06.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

используемых питательных сред и подобран сбалансированный состав ростовых и селективных компонентов в соответствии с требованиями действующих стандартов. Учитывая актуальность повышения эффективности методов контроля бактерий рода *Campylobacter* и отсутствие в Российской Федерации необходимого набора отечественных аналогов питательных сред, разработан оптимизированный способ производства сухих питательных сред для выявления, идентификации и хранения кампилобактерий, выделенных из пищевой продукции и клинического материала. Проведенные исследования позволили разработать Технические условия 21.20.23-006-01897222-2016 «Питательные среды сухие для детекции бактерий рода *Campylobacter*» и «Инструкцию по применению питательных сред». В зависимости от назначения среды вырабатывают в следующих вариантах: жидкая селективная среда для накопления кампилобактерий; дифференциально-диагностический агар для выделения и количественного учета *Campylobacter* spp.; полужидкий питательный агар для криохранения культур *Campylobacter* spp. В перечень критериев оценки качества серийно выпускаемых партий сухих сред включены растворимость, pH, прочность агарового геля, содержание аминокислот азота, специфичность, селективность, ростовые и ингибирующие свойства. Практическое применение этих сред в условиях отечественных лабораторий позволит существенно упростить использование действующих ГОСТов, разработанных на основе международных стандартов ISO, но не адаптированных к основному ассортименту коммерческих сред и реактивов, применяемых при рутинном контроле пищевых продуктов на наличие кампилобактерий.

Ключевые слова: бактерии рода *Campylobacter*, питательные среды, пищевая продукция, методы контроля, хранение штаммов

A screening study on the detection of campylobacteria in raw food products, semi-finished products and objects in the external environment in the poultry processing industry was conducted. The highest level of detection of campylobacteria is set for raw poultry products, including carcasses of broilers, turkeys and quail. A general accordance of getting *Campylobacter* in raw materials and food products with inadequate sanitary treatment of separate areas of production has been established: in most cases *Campylobacter* spp. was extracted from the samples, contaminated with coliform bacteria and *Salmonella*. It is shown that the frequency of contamination of raw poultry with pathogens is largely dependent on the cooling of the carcasses. When using the immersion method, the conditions for cross contamination with pathogens through water bath cooling are present (45% of samples infected with *Campylobacter* spp.). Under combined use of super-cooled water and aerosols *Campylobacter* were also detected quite often in 27% of samples. Contamination by pathogens was the lowest in evaporative cooling method with the use of antimicrobial hydrospray (less than 5% positive samples), allowing to recognize this method as the most promising for the production of microbiological safe products. The work on optimization of nutrient medium composition and adaptation recommended methodological scheme of analysis for detection and species identification of bacteria of the genus *Campylobacter* was carried out. Formulation of traditionally used growth media was modified, and balanced composition of growth and selective components was matched in accordance with the requirements of existing standards. Given the urgency of increasing the effectiveness of the methods of control of campylobacteria in foods and the lack of domestic analogues of the culture media in the Russian Federation, an optimized method for the production of dry nutrient media for the detection, identification and storage of campylobacteria isolated from food products and clinical material was developed. The conducted study allowed to develop Technical conditions 21.20.23-006-01897222-2016 «Dry culture medium for detection of bacteria of the genus *Campylobacter*» and «Instruction for use of culture media». Depending on the purpose of the medium produced in the following versions: the selective broth for enrichment of campylobacteria; differential selective agar for isolating and quantifying of *Campylobacter* spp.; semi-solid nutrient agar for cryostorage of *Campylobacter* strains. The list of criteria for assessing the quality of commercially available lots of dry media included: solubility, pH, gel strength of agar, the content of amine nitrogen, specificity, selectivity, growth and inhibitory properties. The practical application of these media in terms of the national laboratories will significantly simplify the use of existing standards developed based on international ISO standards, but not adapted to the main range of commercial media and reagents used in routine food control for the presence of campylobacteria.

Keywords: bacteria of the genus *Campylobacter*, culture media, food products, methods of control, storage of strains

Обеспечение микробиологической безопасности пищевых продуктов должно базироваться на постоянном совершенствовании требований к проведению контроля и на повышении надежности используемых методов лабораторного анализа, в том числе на основе создания и внедрения высокочувствительных и эффективных питательных сред для выявления и идентификации наиболее значимых групп микроорганизмов. Внедрение в практику новых методов, основанных на современных научных технологиях, даст возможность осуществлять мониторинг загрязненности пищевых продуктов возбудителями пищевых инфекций и интенсифицировать применение методологии оценки микробиологического риска.

Бактерии рода *Campylobacter*, занимающие в настоящее время одно из ведущих мест в этиологии ин-

фекционных заболеваний с пищевым путем передачи [1], относятся к числу наиболее трудно культивируемых микроорганизмов, а потому их детекция требует использования комплексного анализа фено- и генотипических признаков, определяющих ключевые таксономические и патогенетические свойства этих патогенов.

Независимо от применяемых схем выделения и идентификации *Campylobacter* spp., используемые методы должны включать эффективные и достоверные способы отбора и подготовки проб для анализа, что представляется весьма важным в плане интерпретации полученных результатов. Эти способы включают выбор контрольных критических точек, поскольку убиквитарность, термотолерантность и вариабельность штаммов кампилобактеров исключительно благоприятны для сохранения микробных популяций в процессе изготовления и хра-

нения продуктов пищевой индустрии. Принципиально важен для выделения этих патогенов выбор адекватных схем обогащения исследуемых образцов, обеспечивающих накопление возбудителя до уровня достоверной детекции.

В лабораторной диагностике кампилобактериоза наиболее трудной задачей является выделение возбудителя из пищевых продуктов в связи с массивной контаминацией их сопутствующей микрофлорой. На общем микробном фоне исследуемого субстрата количество патогенов, как правило, незначительно, поэтому их прямое культивирование невозможно, в связи с чем возникает необходимость применения специальных селективных методов обогащения для выделения и идентификации возбудителя. С этой целью используется целая гамма разнообразных избирательных питательных сред, селективных агентов и аналитических средств, учитывающих основные культурально-морфологические и биологические свойства выделяемого микроорганизма [2]. Способность кампилобактерий переходить под влиянием стрессовых воздействий в некультивируемые формы создает особенно трудные методические проблемы для получения объективной оценки степени контаминации продукции и адекватного прогнозирования пригодности используемых схем контроля.

В сравнении с другими пищевыми патогенами, такими как энтерогеморрагические *E. coli* или сальмонеллы, *C. jejuni* более чувствительны к неблагоприятным условиям внешней среды. Для роста им необходим определенный набор нутриентов, обеспечивающий заданный окислительно-восстановительный потенциал среды, и специальные микроаэрофильные условия с оптимальной температурой культивирования возбудителя не ниже 30 °С. Такие избирательные свойства теоретически не должны позволять *C. jejuni* выживать вне организма хозяина в природных аэробных условиях или в пищевой цепи. Однако в реальных условиях эти микроорганизмы активно персистируют во внешней среде и обнаруживаются в продуктах, воде или других объектах [3–5]. Механизм такого выживания и последующей перекрестной контаминации *C. jejuni* изучен недостаточно и требует проведения детальных исследований с целью снижения риска возникновения пищевых заболеваний, связанных с употреблением зараженных продуктов, особенно куриного мяса, поскольку его удельный вес в структуре питания населения очень велик.

В связи с изложенным **целями** исследования были:

- изучение контаминации возбудителями кампилобактериоза пищевых продуктов, полученных на птицеперерабатывающих предприятиях при различных технологиях обработки сырья;
- оптимизация рекомендуемых методических схем выявления и видовой идентификации бактерий рода *Campylobacter*;
- повышение чувствительности и специфичности анализов с целью стандартизации их по отношению к официально утвержденным нормативным и методическим документам.

Материал и методы

Всего исследовано свыше 300 проб мяса птицы и полуфабрикатов (от цыплят-бройлеров, индеек и перепелов). На наличие *Campylobacter* spp. также исследовали смывы с оборудования предприятий.

Исследования птицепродуктов и смывов с поверхностей оборудования проводили в условиях трех отечественных птицеперерабатывающих предприятий, применяющих охлаждение тушек погружением в переохлажденную воду, а также комбинированным водно-испарительным и гидроаэрозольным способами. Для антимикробной обработки при всех вариантах использовали технологические вспомогательные средства на основе надуксусной кислоты.

В работе использовали как общепринятые культуральные методы посевов пищевых продуктов, так и вновь разрабатываемые или модифицированные способы выделения и количественного учета возбудителей кампилобактериоза.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью критерия Стьюдента и непараметрического рангового критерия Манна–Уитни. Различия признавали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Расчеты проводили с помощью пакетов программ Excel и SPSS 18.0.

Результаты и обсуждение

С целью накопления статистических материалов по загрязнению *Campylobacter* spp. различных видов сырья, готовых продуктов и полуфабрикатов, проведены комплексные исследования, позволяющие судить о характере контаминации и распространении кампилобактеров на отдельных этапах производства птицепродуктов

Бактерии рода *Campylobacter* обнаруживали преимущественно в сырых птицепродуктах и смывах с поверхностей оборудования птицеперерабатывающих предприятий (свыше 30% положительных проб). В большинстве случаев кампилобактеры выделяли из образцов, обсемененных колиформными бактериями (свыше 60% проб) и сальмонеллами (17% проб).

Полученные данные показали, что частота контаминации сырых птицепродуктов сальмонеллами и кампилобактериями значимо зависит от технологии охлаждения тушек (табл. 1). При использовании погружного способа создаются условия для перекрестной контаминации патогенами через воду в ваннах охлаждения (45% проб, зараженных *Campylobacter* spp.). При комбинированном использовании переохлажденной воды и гидроаэрозолей кампилобактерии также выявляли достаточно часто – в 27% проб. Наименьшее загрязнение патогенами было выявлено при испарительном способе охлаждения с использованием антимикробных гидроаэрозолей (менее 5% положительных проб), что позволяет признать его наиболее перспективным для производства безопасной в микробиологическом отношении продукции.

Таблица 1. Частота обнаружения патогенов в мясе птицы при разных способах охлаждения тушек

Способ охлаждения	Кампилобактерии			Сальмонеллы		
	число проб	из них положительных		число проб	из них положительных	
		абс.	%		абс.	%
Погружение в переохлажденную воду	51	23	45	42	11	26
Комбинированный (водно-воздушный, водоиспарительный)	22	6	27,2	20	1	5
Испарительный (гидроаэрозольный)	21	1	4,8	20	0	0

Получение таких данных необходимо для обоснования отраслевых критериев оценки эффективности технологий производства птицепродуктов и разработки санитарно-гигиенических мероприятий по предупреждению контаминации мяса птицы патогенами в процессе убой и первичной переработки [6]. Эти критерии вместе с мерами, направленными на ликвидацию патогенов в птицеводческом секторе, нужны для повышения гарантии безопасности сырых мясо- и птицепродуктов, направляемых предприятиями в реализацию.

Традиционные микробиологические методы обнаружения *Campylobacter* в пищевых продуктах основаны на применении селективных питательных сред и специальных условий культивирования бактерий. Основные принципы этих методов регламентированы международными стандартами ISO 10272-1:2006, ISO/TS 10272-2:2006 и Руководством по бактериологическим методам анализа FDA (США). В Российской Федерации для контроля пищевых продуктов и расследования вспышек инфекций кампилобактериозной этиологии применяют ГОСТ ISO 10272-1-2013, ГОСТ ISO/TS 10272-2-2013, а также Методические указания 4.2.2321-08 «Методы определения бактерий рода *Campylobacter* в пищевых продуктах».

Процедура выделения *Campylobacter* из образцов пищевых продуктов включает:

- предобогащение в селективном бульоне при 37 °С в течение 4 ч в микроаэрофильных условиях (5% кислорода, 10% углекислого газа, 85% азота);
- обогащение в селективном бульоне в микроаэрофильных условиях при 42 °С в течение 18 ч;
- пересев на агаровые среды для выделения изолированных колоний, инкубирование в микроаэрофильных условиях при 42 °С в течение 24–72 ч.

Для повышения селективных свойств жидких и плотных питательных сред применяют антибиотики цефоперазон, тейкопланин, ванкомицин, триметоприм лактат, циклогексимид, нистатин и др. в различных комбинациях. Для обеспечения ростовых свойств, нейтрализации токсического действия кислорода и света в состав большинства сред вводят стерильную дефибрированную баранью или лошадиную кровь. Поскольку использование крови в лабораториях, контролирующих пищевые продукты, вызывает затруднения, в настоящее время взамен этого компонента рекомендуют применять добавки на основе активированного угля, гематина, а также комбинации из сульфата железа, метабисульфита натрия и пирувата натрия. Для созда-

ния микроаэрофильных условий используют различные микроаэробно-генерирующие системы: газ-пакеты, CO₂-инкубаторы.

Выросшие типичные или подозрительные колонии исследуют по основным морфологическим и биохимическим признакам, в том числе: окраска по Граму, подвижность, оксидазный и каталазный тесты, нитрат/нитрит-редукция, гидролиз гиппурата, ферментация углеводов, чувствительность к антибиотикам, температура роста и др.

Применение регламентированных схем и методов детекции при проведении экспериментальных исследований по обнаружению возбудителей кампилобактериоза в пищевой продукции в 2015–2017 гг. позволило накопить и систематизировать данные о частоте выделения, характере контаминации и свойствах *Campylobacter* spp. [7]. Однако при выполнении запланированных работ были выявлены следующие методические проблемы:

- отсутствие отечественных аналогов зарубежных сред, селективных агентов и специальных компонентов, рекомендуемых для культивирования *Campylobacter* spp., что обуславливает необходимость конструирования питательных сред, подбора и оценки качества серийно выпускаемых сырьевых ингредиентов, химических реагентов, буферных систем и др.;
- недостаточная эффективность используемых ростовых веществ, ферментных систем и ингибиторных добавок, подавляющих рост сопутствующей микрофлоры, в первую очередь грамотрицательных бактерий рода *Proteus*;
- технические трудности обеспечения микроаэрофильных условий культивирования кампилобактеров при рутинном контроле сырья и пищевой продукции;
- отсутствие практических рекомендаций по поддержанию жизнеспособности выделенных культур *Campylobacter* spp. в процессе их изучения и при создании лабораторных коллекций (криобанков) этих микроорганизмов;
- дефицит отечественных аналитических средств и тест-систем для фенотипической и генетической идентификации выделяемых штаммов.

Вышеназванные недостатки лабораторной детекции *Campylobacter* spp. определили направления экспериментальных исследований и необходимость разработки новых подходов к отдельным этапам их практической реализации.

Существующие прототипы методов выявления кампилобактеров основаны на применении преимущественно

зарубежных сред: на первых двух этапах предобогащения и обогащения посевов в качестве селективных бульонов регламентированы бульон Болтона, бульон Престона или селективные среды Дойла, Мартена или Парка. В их состав в качестве питательной основы входят мясной экстракт, ферментативные гидролизаты животных белков (мяса, казеина, лактальбумина). Для обеспечения толерантности к кислороду используют дефибрированную кровь или антиоксиданты. Для пересева на агаризованные среды используются селективные агары Престона, Кармали или угольный агар, в основу которых также входят пептон, мясной экстракт и гидролизаты казеина, дефибрированная кровь, активированный древесный уголь и аэротолерантные добавки. Специальных способов хранения и транспортирования культур кампилобактеров не предлагается, тогда как общепринятые методики криохранения и лиофилизации не всегда пригодны для *Campylobacter* spp., требующих особых условий для сохранения жизнеспособности этих микроорганизмов.

Подбор питательных основ и отечественных компонентов в составе селективных сред и сравнительные испытания их при культивировании различных штаммов *Campylobacter* spp. позволили разработать рецептуры и сконструировать состав базовых сред для накопления и выделения кампилобактерий. С целью обеспечения сохранности основных фенотипических признаков и поддержания жизнеспособности выделенных штаммов разработана модифицированная среда – полужидкий питательный агар для криохранения культур *Campylobacter* spp. (табл. 2).

Из широкого ассортимента селективных добавок, рекомендуемых действующими стандартами, отобраны для практического применения в комплекте с базовыми средами следующие дифференциально-диагностические компоненты (табл. 3).

Использование в составе питательной основы комплекса легко усвояемых азотистых веществ, полученных в результате гидролитического расщепления белков животного, растительного и микробного происхождения

Таблица 2. Состав разработанных базовых сред (г/дм³)

Основной компонент	Жидкая селективная среда для накопления кампилобактерий	Дифференциально-диагностический агар для выделения и количественного учета <i>Campylobacter</i> spp.	Полужидкий питательный агар для криохранения культур <i>Campylobacter</i> spp.
Пептон мясной ферментативный	12,0	15,0	11,0
Пептон соевый ферментативный	–	8,0	–
Гидролизат казеина	10,0	–	10,0
Дрожжевой экстракт	2,0	–	2,0
D-глюкоза	–	5,0	–
Агар микробиологический	–	15,0	1,25
Натрия хлорид	5,0	5,0	5,0
Натрий пировинограднокислый	0,25	0,25	0,25
Натрия метабисульфит	0,25	0,25	0,25
Железо (II) сернокислое	0,25	0,25	0,25
L-цистеина гидрохлорид	0,1	–	–
Натрий углекислый	–	0,5	–
Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный	8,75	–	–
Калий фосфорнокислый однозамещенный	1,4	–	–
Аскорбиновая кислота	–	0,75	–
Всего	40,0	50,0	30,0

Таблица 3. Селективные добавки и диагностические компоненты

Компонент	Жидкая селективная среда для накопления кампилобактерий	Дифференциально-диагностический агар для выделения и количественного учета <i>Campylobacter</i> spp.	Полужидкий питательный агар для криохранения культур <i>Campylobacter</i> spp.
Кровь стерильная дефибрированная	50 см ³ /дм ³ базовой среды	50 см ³ /дм ³ базовой среды	–
Глицерин стерильный	–	–	150 см ³ /850 см ³ базовой среды
Полимиксина В сульфат	5000 Е	5000 Е	–
Рифампицин	10 мг	10 мг	–
Амфотерицин В	10 мг	10 мг	–

Таблица 4. Жизнеспособность тест-культур *Campylobacter jejuni* в процессе хранения при низких температурах

№ тест-штаммов	Длительность хранения									
	полужидкий агар для криохранения					глицериновый бульон (контроль)				
	1 мес	3 мес	6 мес	9 мес	12 мес	1 мес	3 мес	6 мес	9 мес	12 мес
Температура хранения (-18±1) °С										
<i>C. jejuni</i> NCTC 11168	++	+	+	+	-	++	+	-	-	-
<i>C. jejuni</i> 5.2	++	++	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>C. jejuni</i> 17п	++	+	-	-	-	++	+	-	-	-
<i>C. jejuni</i> 7-9	++	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>C. jejuni</i> 39	++	++	-	-	-	+	--	-	-	-
Температура хранения (-70±2) °С										
<i>C. jejuni</i> NCTC 11168	++	++	++	+	+	++	++	+	-	-
<i>C. jejuni</i> 5.2	++	++	++	++	+	++	+	-	-	-
<i>C. jejuni</i> 17п	++	++	++	+	+	++	+	-	-	-
<i>C. jejuni</i> 7-9	++	++	++	+	+	++	++	+	-	-
<i>C. jejuni</i> 39	++	++	++	+	+	++	+	+	-	-

П р и м е ч а н и е. «++» – наличие сливного роста тест-штамма при высеве 0,05 см³ суспензии на поверхность кровяного агара; «+» – рост отдельных колоний; «-» – отсутствие роста.

до оптимальных концентраций аминного азота, обеспечивало заданный уровень нутритивных компонентов. Включение в рецептуры дрожжевого экстракта как источника биологически активных компонентов и стимуляторов роста в сочетании с метабисульфитом натрия, сульфатом железа и пируватом натрия способствовало улучшению ростовых свойств субстратов и снижению окислительного стресса. Внесение L-цистеина и аскорбиновой кислоты обеспечивало оптимальный уровень окислительно-восстановительного потенциала среды.

С целью унификации лабораторных процедур подобран комплекс антибактериальных препаратов (полимиксина В сульфат, рифампицин, амфотерицин В), эффективно ингибирующих рост сопутствующей микрофлоры как в накопительном бульоне, так и при пересевах на агаровую среду. Заданные концентрации антибиотиков в рецептурах предлагаемых сред обеспечивали подавление роста бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, энтерококков, стафилококков, псевдомонад и протей при исходном уровне контаминации посторонней микрофлоры 10²–10⁴ КОЕ/см³.

Рекомендуемый для хранения штаммов *Campylobacter spp.* полужидкий питательный агар, содержащий 0,12% агара, 1,8% аминного азота и 15% глицерина, позволял сохранять жизнеспособность тест-штаммов при криохранении в условиях низких температур (-70±2) °С не менее 9 мес. Включение в состав полужидкого агара защитной аэротолерантной смеси (метабисульфит натрия + сульфат железа + пируват натрия) способствовало созданию улучшенных условий для поддержания физиологического статуса и ростовых свойств культур кампилобактеров (табл. 4). При этом основные фенотипические характеристики штаммов существенно не менялись и полностью восстанавливались после 2–3 пассажей в неселективной среде. Один из характерных признаков – подвижность – удавалось сохранить на протяжении длительного срока хранения – 9–12 мес.

Определение подвижности проводили, используя способность штаммов формировать моноколонии на поверхности 0,2% полужидкого агара при нанесении 5 мкл суспензии изолята. Посевы проводили в трехкратной повторности. Различия признавали достоверными при $p < 0,05$. Этот признак позволял судить о морфологических изменениях стареющих субпопуляций тестируемых штаммов, подтверждающих фенотипическую изменчивость выделенных культур под воздействием неблагоприятных факторов (табл. 5).

В то же время криохранение штаммов при обычных условиях в глицериновом бульоне (15% глицерина + 85% бульона Престона) сопровождалось потерей подвижности и инактивацией тестируемых культур *C. jejuni* после 2–3 мес наблюдений.

Учитывая сложный многокомпонентный состав субстратов для детекции кампилобактеров, с целью упрощения способа приготовления питательных сред и снижения трудоемкости баканализов разработан оптимизированный способ производства сухих питательных сред для выявления, идентификации и хранения кампилобактерий. Утверждены Технические условия 21.20.23-006-01897222-2016 «Питательные среды сухие для детекции бактерий рода *Campylobacter*» и Инструкция по применению вышеуказанных сред при контроле пищевой продукции и клинического материала. В перечень критериев оценки качества серийно выпускаемых партий сухих сред включены основные физико-химические и биологические показатели, в том числе растворимость, pH, прочность агарового геля, содержание аминного азота, специфичность, селективность, ростовые и ингибирующие свойства (табл. 6).

Сравнительные квалификационные испытания опытных серий сухих питательных сред в сопоставлении с зарубежными аналогами, зарегистрированными в Российской Федерации, показали их высокую чувствительность, воспроизводимость и практическую при-

Таблица 5. Подвижность тест-культур *Campylobacter jejuni* (мм, $M \pm m$) в процессе хранения при низких температурах

№ тест-штаммов	Длительность хранения									
	полужидкий агар для криохранения					глицериновый бульон (контроль)				
	1 мес	3 мес	6 мес	9 мес	12 мес	1 мес	3 мес	6 мес	9 мес	12 мес
Температура хранения (-18±1) °C										
<i>C. jejuni</i> NCTC 11168	6,3±0,4	6,0±0,5	5,5±0,0	5,5±0,0	-	6,0±0,1	5,3±0,2	-	-	-
<i>C. jejuni</i> 5.2	8,5±0,5	8,0±0,5	8,0±0,4	-	-	8,0±0,4	-	-	-	-
<i>C. jejuni</i> 17п	9,0±0,8	7,5±0,3	-	-	-	9,4±0,6	8,3±0,4	-	-	-
<i>C. jejuni</i> 7-9	7,5±0,3	6,0±1,0	-	-	-	7,5±0,3	-	-	-	-
<i>C. jejuni</i> 39	6,0±1,0	5,5±0,3	-	-	-	5,5±0,2	-	-	-	-
Температура хранения (-70±2) °C										
<i>C. jejuni</i> NCTC 11168	6,5±0,6	6,3±0,7	6,0±0,5	6,5±0,5	6,3±0,4	5,8±0,4	6,0±0,0	5,8±0,6	-	-
<i>C. jejuni</i> 5.2	8,8±0,3	8,5±0,7	8,0±0,5	8,2±0,2	8,0±0,4	8,2±0,6	7,0±0,5	-	-	-
<i>C. jejuni</i> 17п	9,0±0,2	9,0±0,4	8,5±0,5	8,5±0,5	8,0±0,0	9,0±0,2	8,0±0,2	-	-	-
<i>C. jejuni</i> 7-9	7,5±0,5	7,5±0,0	7,0±0,8	7,5±0,3	7,5±0,0	6,5±0,3	6,5±0,5	5,5±0,0	-	-
<i>C. jejuni</i> 39	6,0±0,5	н/д	6,0±1,0	н/д	5,5±0,5	6,0±1,0	н/д	5,3±0,4	-	-

Таблица 6. Физико-химические показатели и специфическая активность селективных сред

Показатель	Жидкая селективная среда для накопления кампилобактерий	Дифференциально-диагностический агар для выделения и количественного учета <i>Campylobacter</i> spp.
Внешний вид, цвет	Мелкодисперсный гигроскопичный порошок серовато-бежевого цвета	
Растворимость	Растворяется при кипячении в течение 3 мин	
pH	7,0±0,2	7,2±0,2
Массовая доля влаги, %, не более	7,0	7,0
Массовая доля аминного азота, %, не менее	1,8	2,0
Прочность агарового геля, г/см ²	-	Не менее 350
Прозрачность и цветность	Готовая среда должна быть прозрачной, светло-соломенного цвета, после добавления крови – темно-красного цвета	
Чувствительность среды и стабильность основных биологических свойств тест-штаммов	Характеристика роста тест-штаммов через 48±2 ч инкубации в микроаэрофильных условиях (N ₂ – 85%, CO ₂ – 10%, O ₂ – 5%) при температуре 41,5±0,5 °C	
<i>Campylobacter jejuni</i> NCTC 11168 <i>C. coli</i>	Среда должна обеспечивать рост в виде гомогенного помутнения при посеве 0,1 см ³ микробной взвеси тест-штаммов из разведения 10 ⁻⁵ -:10 ⁻⁶ .	Среда должна обеспечивать рост при посеве 0,1 см ³ микробной взвеси тест-штаммов из разведения 10 ⁻⁶ -:10 ⁻⁷ . <i>C. jejuni</i> и <i>C. coli</i> образуют мелкие округлые колонии, полупрозрачные с серым оттенком, гладкие, влажные, иногда матовые или восковидные, зоны гемолиза должны отсутствовать
Ингибирующие свойства <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	При посеве 0,1 см ³ микробной взвеси тест-штаммов должен подавляться рост тест-штаммов из разведения 10 ⁻² -:10 ⁻³	При посеве 0,1 см ³ микробной взвеси тест-штаммов должен подавляться их рост из разведения 10 ⁻³ -:10 ⁻⁴ . При более высоких концентрациях устойчивые штаммы могут формировать нетипичные для <i>Campylobacter</i> непрозрачные колонии белого или желтого цвета, в том числе с зоной гемолиза

годность для проведения контроля различных объектов для выявления и количественного определения бактерий рода *Campylobacter*. В зависимости от назначения среды вырабатывают в следующих вариантах: жидкая селективная среда для накопления кампилобактерий; дифференциально-диагностический агар для выделения и количественного учета *Campylobacter* spp.; полужидкий питательный агар для криохранения культур *Campylobacter* spp.

Заключение

С целью повышения эффективности выделения бактерий рода *Campylobacter* из различных объектов

и оптимизации режимов хранения выделенных штаммов были модифицированы рецептуры традиционно используемых питательных сред и подобран сбалансированный состав ростовых и селективных компонентов. Разработаны и утверждены Технические условия 21.20.23-006-01897222-2016 «Питательные среды сухие для детекции бактерий рода *Campylobacter*». Практическое применение этих сред в условиях отечественных лабораторий позволит существенно упростить использование действующих ГОСТов, разработанных на основе международных стандартов ISO, но не адаптированных к основному ассортименту коммерческих сред и реактивов, применяемых при рутинном контроле пищевых продуктов на наличие кампилобактерий.

Результаты исследований по оптимизации состава питательных сред и адаптации методических схем анализа для выявления и видовой идентификации бактерий рода *Campylobacter* включены в разработанные «Методические указания по определению в пищевой

продукции возбудителей кампилобактериоза и оценке их антибиотикорезистентности» (2017 г.).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 15-16-00015).

Сведения об авторах

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва):

Ефимочкина Наталья Рамазановна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома

E-mail: karlikanova@ion.ru

Пичугина Татьяна Викторовна – кандидат технических наук, научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома

E-mail: bbtvp@ion.ru

Стеценко Валентина Валерьевна – аспирант

E-mail: stetsenko_valentina1992@mail.ru

Быкова Ирина Борисовна – научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома

E-mail: bykova@ion.ru

Маркова Юлия Михайловна – научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома

E-mail: yulia.markova.ion@gmail.com

Короткевич Юлия Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома

E-mail: ulya_korotkevich@mail.ru

Полянина Анна Сергеевна – лаборант-исследователь лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома

E-mail: polyanina.anna.sergeevna@gmail.com

Шевелева Светлана Анатольевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией биобезопасности и анализа нутримикробиома

E-mail: sheveleva@ion.ru

Литература

- World Health Organization. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007–2015. URL: www.who.int
- Ефимочкина Н.Р. Оценка роли бактерий рода *Campylobacter* в возникновении пищевых токсикоинфекций и современные методы обнаружения возбудителя // *Вопр. питания*. 2015. № 6. С. 5–18.
- Булахов А.В., Ефимочкина Н.Р., Шевелева С.А. Обнаружение бактерий рода *Campylobacter* в птицепродуктах с помощью метода полимеразной цепной реакции // *Вопр. питания*. 2010. Т. 79, № 3. С. 24–29.
- Humphrey T., O'Brien S., Madsen M. *Campylobacters* as zoonotic pathogens: a food production perspective // *Int. J. Food Microbiol.* 2007. Vol. 117, N 3. P. 237–257.
- Guerin M.T., Sir C., Sargeant J.M. et al. The change in prevalence of *Campylobacter* on chicken carcasses during processing: a systematic review // *Poult. Sci.* 2010. Vol. 89. P. 1070–1084.
- Шевелева С.А., Ефимочкина Н.Р., Козак С.С., Минаева Л.П., Быкова И.Б., Пичугина Т.В. и др. Влияние традиционных технологий охлаждения на профиль патогенных микробных контаминантов мяса птицы отечественного производства // *Вопр. питания*. 2016. Т. 85, № S2. С. 38.
- Ефимочкина Н.Р., Быкова И.Б., Стеценко В.В., Минаева Л.П., Пичугина Т.В., Маркова Ю.М. и др. Изучение характера контаминации и уровней содержания бактерий рода *Campylobacter* в отдельных видах пищевой продукции // *Вопр. питания*. 2016. Т. 85, 5. С. 52–59.

References

- World Health Organization. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007–2015. URL: www.who.int.
- Efimochkina N.R. Evaluation of the role of *Campylobacter* spp. in the occurrence of foodborne diseases and modern methods to detect the pathogen. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2015; 84 (6): 4–17. (in Russian)
- Bulakhov A.V., Efimochkina N.R., Sheveleva S.A. Detection of bacteria of genus *Campylobacter* in poultry products using PCR assay. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2010; 79 (3): 24–9. (in Russian)
- Humphrey T., O'Brien S., Madsen M. *Campylobacters* as zoonotic pathogens: a food production perspective. *Int J Food Microbiol.* 2007; 117 (3): 237–57.
- Guerin M.T., Sir C., Sargeant J.M., et al. The change in prevalence of *Campylobacter* on chicken carcasses during processing: a systematic review. *Poult Sci.* 2010; 89: 1070–84.
- Sheveleva S.A., Efimochkina N.R., Kozak S.S., Minaeva L.P., Bykova I.B., Pichugina T.V., et al. The Influence of traditional technologies of the chilling of chicken carcasses on the profile of pathogenic microbial contaminants in poultry meat of domestic production. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2016; 85 (S2): 38. (in Russian)
- Efimochkina N.R., Bykova I.B., Stetsenko V.V., Minaeva L.P., Pichugina T.V., Markova Yu.M., et al. Study of the contamination and the levels of *Campylobacter* spp. during the processing of selected types of food. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2016; 85 (5): 52–9. (in Russian)

Для корреспонденции

Демин Владимир Федорович – доктор технических наук, кандидат физико-математических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Курчатовского комплекса НБИКС-технологий ФГБУ «Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”»

Адрес: 123182, г. Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1

Телефон: (499) 196-52-22

E-mail: vfdemin_kiae@mail.ru

Анциферова А.А.¹, Демин В.А.¹, Демин В.Ф.¹, Соловьев В.Ю.²

Ядерно-активационные аналитические методы и рентгенофлуоресцентный анализ в применении к определению токсичных элементов и микроэлементов в пищевых продуктах и характеристике биокинетики наночастиц

Nuclear activation analytical methods and X-ray fluorescence analysis in application to determination of pollutants and trace elements in food and for studying biokinetics of nanoparticles

Antsiverova A.A.¹, Demin V.A.¹, Demin V.F.¹, Soloviev V.Yu.²

¹ ФГБУ «Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”», Москва

² ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

¹ National Research Center «Kurchatov Institute», Moscow

² Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency of Russian Federation, Moscow

Для обеспечения качества и безопасности пищевых продуктов необходимо исследовать пути загрязняющих веществ, в том числе токсичных микроэлементов, на всех этапах обращения с ними, начиная от производства сельскохозяйственной продукции, включая ее переработку, хранение, транспортировку, и заканчивая приготовлением пищи и потреблением. Для этих исследований развиваются ядерно-активационные аналитические методы (ЯААМ) и рентгенофлуоресцентный анализ (РФА) для определения химических элементов в разных средах. ЯААМ включают 2 стадии: ядерную активацию изотопов тепловыми нейтронами или быстрыми заряженными частицами и гамма-спектрометрию. РФА основан на методе детектирования флуоресцентного характеристического рентгеновского излучения элементов. Интерес к этим методам обусловлен относительной простотой анализа, возможностью обеспечить необходимую чувствительность и точность детектирования химических элементов. Основная цель работы – продемонстрировать возможности этих методов для контроля качества пищевых продуктов и исследования биокинетики микроэлементов в части достижения необходимой точности (не более 15%) и чувствительности (ниже допустимых концентраций токсичных элементов).

Для цитирования: Анциферова А.А., Демин В.А., Демин В.Ф., Соловьев В.Ю. Ядерно-активационные аналитические методы и рентгенофлуоресцентный анализ в применении к определению токсичных элементов и микроэлементов в пищевых продуктах и характеристике биокинетики наночастиц // *Вопр. питания.* 2017. Т. 86. № 5. С. 42–49.

Статья поступила в редакцию 05.05.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Antsiverova A.A., Demin V.A., Demin V.F., Soloviev V.Yu. Nuclear activation analytical methods and X-ray fluorescence analysis in application to determination of pollutants and trace elements in food and for studying biokinetics of nanoparticles. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2017; 86 (5): 42–9. (in Russian)

Received 05.05.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

Оба этих метода дополняют друг друга в плане расширения списка детектируемых химических элементов и выбора оптимального варианта анализа в зависимости от искомого элемента, вида исследуемого образца и готовности технических средств. Кроме анализа возможностей ЯААМ и РФА, два разных, но частично связанных варианта исследования были выполнены с использованием ЯААМ: 1) тестовые исследования содержания токсичных микроэлементов в образцах пищевых продуктов методом ЯААМ; 2) исследование биокинетики наночастиц (НЧ), поступающих с пищей и водой, у лабораторных животных с особым вниманием к преодолению биологических барьеров. Одним из важных результатов является демонстрация преодоления гематоэнцефалического барьера мозга НЧ серебра при их поступлении в организм животного с пищей или водой, возможности их накопления в мозге с чрезвычайно низкой скоростью экскреции ($\approx 6\%$ в месяц).

Ключевые слова: безопасность, контроль качества пищевых продуктов, микроэлементы, наночастицы, ядерная активация, гамма-спектроскопия, рентгеновская флуоресценция, биокинетика

For assurance of food quality and safety, it is necessary to control routes of food pollutants, including toxic trace elements in all stages of handling, ranging from the production of agricultural products, including the processing, storage, transportation, and ending with cooking and consumption. For this control the nuclear activation analytical methods (NAAMs) and X-ray fluorescence analysis (XRFA) are studied and developed for the detection of chemical elements in different environments. NAAMs involve two stages: the activation of nuclear isotopes with thermal neutrons or fast charged particles and gamma spectrometry. XRFA technique is based on detecting characteristic fluorescent X-rays of elements. Interest in these methods is due to the relative simplicity of the analysis, the ability to provide the required sensitivity and accuracy of detection of chemical elements. The main objective of the research work is to demonstrate the potential of these techniques for controlling the quality and safety of food products and for research of trace elements' biokinetics with achieving the required accuracy (no worse than 15%) and sensitivity (below the permissible concentrations of harmful substances) and to prepare them for the practical application. Both methods complement each other in terms of expanding the list of detected chemical elements and choosing the best option in the analysis depending on the type of the test sample and readiness of technical means. In addition to the analysis of NAAMs and XRFA capabilities two different but partly connected research options were performed using NAAMs: 1) control of food quality and safety; 2) research of biokinetics of nanoparticles (NPs), incoming with food and water into laboratory animals with special attention to overcoming biological barriers. One of the important result is the demonstration of overcoming the blood/brain barrier by silver NPs when they are ingested into the animals with food or water, and possibility of their accumulation in brains with extremely low excretion ($\approx 6\%$ per month).

Keywords: safety, food quality control, trace elements, nanoparticles, nuclear activation, gamma spectroscopy, X-ray fluorescence, biokinetics

Для контроля качества и безопасности пищевых продуктов необходимы эффективные методы определения токсичных элементов, а также эссенциальных микроэлементов на всех стадиях обращения пищевых продуктов, начиная от сельскохозяйственного производства, переработки, хранения, транспортировки и заканчивая приготовлением пищи.

В настоящее время используются различные методы детектирования эссенциальных микроэлементов и загрязнителей физической, химической и биологической природы в пищевых продуктах и сельскохозяйственном сырье [1]:

- микроскопия и связанные с ней методы;
- атомно-эмиссионная и абсорбционная спектрометрия;
- масс-спектрометрия;

- ядерно-активационные аналитические методы (ЯААМ);
- рентгенофлуоресцентный анализ (РФА); и др.

Методы детектирования ЯААМ, развитие и применение которых имеет длительную и успешную историю [2–5], и РФА обладают рядом преимуществ в части чувствительности и точности измерений и могут рассматриваться как полезное дополнение к неядерным методам анализа, упомянутым выше.

Цель настоящей работы – путем теоретических расчетов и тестовых испытаний продемонстрировать возможность использования этих методов для контроля качества и безопасности пищевых продуктов и исследования биокинетики микроэлементов в части достижения необходимой точности (не более 15%) и чувстви-

тельности (ниже допустимых концентраций токсичных микроэлементов) и подготовить их к практическому применению.

Материал и методы

Ядерно-активационные аналитические методы детектирования

В настоящее время можно отметить несколько вариантов ЯААМ, каждый из которых имеет свою наиболее эффективную область применения. Основой этих методов является процедура детектирования гамма-излучения радиоактивных ядер, образующихся при облучении соответствующих ядер-мишеней исследуемого образца в потоке нейтронов или заряженных частиц. Следует отметить инструментальный нейтронный активационный анализ (ИНАА) и инструментальный активационный анализ с использованием потока быстрых заряженных частиц (протонов и др.).

С помощью ЯААМ можно детектировать большое число различных элементов. Актуальными с позиции контроля качества и безопасности пищевых продуктов являются эссенциальные микроэлементы (Fe, I, Cu, Zn, Co, Cr, Mo, Se, Mn), условно эссенциальные (Br, B, F, Li, Ni, V, Si) и токсичные элементы (Al, As, Cd, Pb, Sb, Hg, Be, Bi, Tl). Следует отметить: как правило, Ag относят к классу токсичных, а биологическая роль Ti до сих пор недостаточно ясна.

Активационный анализ включает 2 стадии: 1) активацию искомых химических элементов, содержащихся в образце, в потоке тепловых нейтронов или быстрых заряженных частиц (протонов и др.) с образованием радиоактивных гамма-излучающих изотопов с достаточно большим периодом полураспада (сутки и более); 2) гамма-спектрометрический анализ этих радиоизотопов и обработка его результатов. Вариант с активацией быстрыми заряженными частицами расширяет список детектируемых элементов или позволяет улучшить качество метода относительно элементов, для которых нейтронно-активированные изотопы имеют относительно малый период полураспада. При этом можно достичь хороших результатов детектирования таких элементов, как As, Au, V, Pb, Cu, Ti, Ca.

Инструментальный нейтронный активационный анализ

Метод ИНАА как вариант ЯААМ разработан несколько десятилетий назад в целях проведения биохимического и физико-химического анализа. Этот метод до настоящего времени является уникальным с позиции своей чувствительности и селективности. Его важными особенностями и преимуществами являются также простота подготовки проб, неdestructивный характер анализа (возможность повторного исследования образца), расширенная область применения в части определения значительного числа элементов в образцах различ-

ной природы, включая биологические среды, высокие надежность и точность, возможность измерения содержания непосредственно в объеме твердотельных проб. Содержание искомого элемента можно определить как в микро-, так и в макрообразцах размером до нескольких сантиметров по всем трем измерениям, что особенно важно при неоднородном содержании элемента. Можно исследовать биокинетiku контролируемых веществ в организме лабораторных животных, включая биофильные элементы (например, цинк, селен), при моделировании их поступления из окружающей среды, в том числе с пищевыми продуктами. Имеется возможность использования заряженных частиц для активации искомого элемента, а также в одном сеансе ЯААМ определить несколько элементов.

Для достижения высокой точности измерений (5–15%), как правило, применяется относительная методика: наряду с объектом облучается стандартный образец (эталон) с известным содержанием искомого стабильного изотопа.

Современный высокий уровень ИНАА определяется возможностью использования мощных потоков нейтронов (10^{12} – 10^{15} н/см²·с) исследовательских реакторов, сочетания различных версий методики, современных полупроводниковых детекторов высокого разрешения (≤ 2 кэВ), стандартных образцов, современной измерительной и вычислительной техники, а также современной компьютерной технологии для обработки и интерпретации данных.

Активационный анализ имеет свои недостатки. С его помощью невозможно определить валентное состояние элемента, в частности решить проблему определения органических и неорганических форм микроэлементов; он требует использования сложной аппаратуры (например, ядерного реактора), работы с радиоактивными веществами, что определяет необходимость соблюдения особых требований техники безопасности и получения разрешения на работу.

Отбор, хранение и подготовку образцов для анализа проводили в соответствии с рекомендациями документа «Кодекс Алиментариус» по методам анализа и отбора проб и методическими указаниями МУ 1.2.2741-10 «Порядок отбора проб для выявления и идентификации наноматериалов в лабораторных животных».

Процедура подготовки образцов. Образцы пищевых продуктов в естественном или высушенном виде в количестве от десятых долей грамма до нескольких граммов упаковывали в пробирки типа Эппендорф. Образцы наночастиц (НЧ) приготавливали в виде водных суспензий и в этой форме также помещали в такие пробирки.

Несколько пробирок с образцами помещали в контейнер, изготовленный из чистого алюминия, который вставляется в канал исследовательского ядерного реактора для облучения нейтронами.

Для планирования всех этапов исследования, в частности для выбора интервалов времени на этапах нейтронного облучения и гамма-спектрометрического ана-

лиза, используется так называемый абсолютный метод. Это прямой теоретический расчет активации изучаемых элементов на основе данных относительно интенсивности потока нейтронов и ядерных характеристик первичных и активированных изотопов.

Инструментальный протонный активационный анализ

В силу особой значимости таких исследований была начата разработка методов детектирования наноматериалов с содержанием титана. Они основаны на использовании активации титана быстрыми протонами с образованием радиоактивного ванадия ^{48}V в реакциях (p ; n , $2n$, ...) на изотопах природного титана. Данная реакция имеет относительно высокие значения сечения активации в диапазоне энергии протонов 7–17 МэВ, достаточные, для того чтобы рассчитывать на получение удовлетворительных результатов по чувствительности детектирования титана методом ЯААМ. Радиоактивный изотоп ^{48}V имеет достаточно длительный период полураспада ($T_{1/2} = 15,98$ сут) и гамма-линии 1,312 и 0,9835 МэВ с выходом одного фотона на каждый распад.

Наиболее серьезные проблемы применения ЯААМ с активацией заряженными частицами связано именно со стадией активации исследуемого элемента. Для того чтобы изучить возможность использования ЯААМ на быстрых заряженных частицах, проводился тестовый эксперимент на пучке протонов циклотрона в НИЦ «Курчатовский институт».

В этом эксперименте был использован порошок HfTiO_2 в форме рутила («Sigma-Aldrich», США–Германия) – частично агрегированных палочковидных нанокристаллов с диаметром 5–10 нм и длиной 40–50 нм.

После предварительного теоретического анализа был принят и реализован следующий сеанс экспозиции: облучению подвергался образец HfTiO_2 массой 0,6 г в запаянной трубке из кварцевого стекла; время экспозиции – 28 мин при средней плотности потока частиц 10^{12} р/см 2 ·с.

После открытия трубки облученный порошок (0,58 г), содержащий радиоизотопы ^{48}V , растворяли в пробирке с 25 см 3 дистиллированной воды. Полученную водную суспензию интенсивно перемешивали, и активность каждого ее 1 см 3 составляла 29 кБк/см 3 . Эта водная суспензия была готова к изучению биокинетики HfTiO_2 .

Рентгенофлуоресцентный анализ

РФА – физический метод анализа, который позволяет напрямую определять в порошкообразных, твердых и жидких пробах почти все химические элементы периодической системы. С помощью РФА можно определять как очень низкие концентрации элементов на уровне мкг/кг, так и очень большие, вплоть до 100% без разбавления пробы. РФА прежде всего получил широкое распространение, в промышленности, а также в области научных исследований. Широкие возмож-

ности метода особенно полезны при крайне сложном анализе объектов окружающей среды, при контроле качества производства и при анализе сырья и готовой продукции [6].

Возможности РФА значительно расширяются при использовании синхротронного рентгеновского излучения – тормозного электромагнитного излучения электронов, движущихся по искривленной траектории. Его основным преимуществом является широкий энергетический спектр.

Особенности синхротронного излучения открывают следующие возможности для РФА: анализ образцов очень малого объема и малой массы (от 100 до 0,5 мг), значительное повышение пределов обнаружения (на 1–2 порядка, чем для РФА на рентгеновских трубках), проведение анализа с вариацией энергии возбуждающих квантов (от 0 до 40 кэВ).

К недостаткам способа следует отнести необходимость приготовления тонких образцов и более жесткие требования к измельчению материала и его однородности, а также то, что неразрушающие методы анализа, как правило, жестко привязаны к стандартным образцам (эталоном).

Список элементов, которые можно детектировать с помощью РФА, достаточно широк: S, Cl, Ar, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Br, Kr, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, I, Cs, Ba, La, Ce, Ta, W, Au, Hg, Tl, Pb, Bi.

Проведен тестовый эксперимент по обнаружению Hf в биологических пробах методом РФА с использованием синхротронного рентгеновского излучения от Курчатовского специализированного источника синхротронного излучения в ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»».

Результаты и обсуждение

Исследования с использованием ЯААМ и РФА выполняются по двум разным направлениям: 1) контроль качества и безопасности пищевых продуктов путем разработки и использования эффективных методов детектирования микроэлементов; 2) исследования биокинетики микроэлементов, в том числе в наноразмерном физико-химическом виде, при их пероральном поступлении в организм лабораторных животных с особым вниманием к преодолению биологических барьеров.

Применение ядерно-активационных аналитических методов к контролю пищевых продуктов

Результаты ИНАА представляются в терминах активности изучаемого радиоактивного изотопа со стандартной инструментальной среднеквадратичной ошибкой. Метод расчета этой ошибки в методе ИНАА с использованием сравнения со стандартными образцами описан в [5]. Для получения достоверного результата измерения

изучаемого содержания элементов в исследованных средах процедуру измерения проводят для не менее чем 4 одинаковых образцов.

Результаты определения содержания элементов As, Ag, Se, Cd и др. в образцах пищевых продуктов (картофель, молочные продукты, крупы, хлеб и др.), отобранных в центральных областях европейской части России, с использованием ЯААМ приведены в табл. 1 и 2. Наряду с полученными нами результатами представлены результаты исследований, проведенных ранее группой авторов с использованием атомной спектроскопии и ИНАА [4].

Поскольку элементы Pb и Ti не имеют соответствующих радиоактивных изотопов для применения ИНАА, для этих и ряда других элементов предполагается использовать инструментальный протонный активационный анализ.

Одно из основных требований к качеству метода измерения состоит в том, чтобы иметь чувствительность ниже допустимого уровня (ДУ) загрязнителей. Значения пределов чувствительности, представленных в табл. 1 и 2, отражают умеренные условия проведения экспериментов и технические характеристики оборудования в ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»». При необходимости эти условия до некоторой степени можно изменить в сторону увеличения чувствительности (увеличивая время облучения и/или гамма-спектрометрического анализа).

Из данных табл. 1 и 2 следует, что для Pb метод ЯААМ не обладает достаточной чувствительностью. Результаты, полученные в настоящей работе, находятся в хорошем согласии с результатами работы [4].

Применение ядерно-активационных аналитических методов к контролю наночастиц в пищевой цепочке

Развитие нанотехнологий и быстрый рост количества продуктов, содержащих НЧ, поднимает проблему обеспечения их безопасности для человека и окружающей среды. В последние 10–20 лет производство и потребление НЧ серебра и титана (в виде TiO₂) резко возросло в различных отраслях промышленности, в том числе в пищевой и фармацевтической.

Это диктует необходимость развития методов изучения биокинетики НЧ в организме лабораторных животных с основным вниманием к их поступлению с пищей и водой. Одной из главных задач исследования является количественная оценка характеристик преодоления биологических барьеров, с особым вниманием к гематоэнцефалическому барьеру и проникновению НЧ через плаценту и грудное молоко [7–9].

Одной из целей проводимых исследований биокинетики НЧ, поступающих в организм экспериментальных животных с пищей или водой, является получение экспериментальных данных по поглощению, биораспределению и бионакоплению НЧ для последующего

Таблица 1. Результаты применения ядерно-активационных аналитических методов (ЯААМ) для контроля пищевых продуктов животного происхождения, отобранных в центральной части европейской территории России [результаты настоящей работы (для творога) и данные работы [4]]

Химический элемент	Предел чувствительности δm , мкг (в ЯААМ)	Допустимый уровень (ДУ) [11] и реальное содержание, мг/кг			
		мясо, яйца и их продукты		молочные продукты	
		ДУ	содержание [4]	ДУ	содержание [4]
As	10 ⁻³ –10 ⁻²	0,1–0,6	<0,01	0,02–0,2	<0,01
Pb	1	0,3–1,0	0,04±0,02	0,1–0,3	<0,02
Cd	3×10 ⁻²	0,01–0,05	<0,05; 0,04±0,01*	0,03–0,1	<0,01
Cr	10 ⁻²	–	0,04±0,02	0,1	0,04±0,02 [4]
Se	10 ⁻²	–	0,08±0,01**; <0,02	0,5	<0,01 <0,02 [4]
Zn	10 ⁻²	–	20–50 (±5)	5–10	4,0±1,5; 5,0±1,5 [4]

* – яйца; ** – мясо.

Таблица 2. Результаты применения ядерно-активационных аналитических методов (ЯААМ) для контроля пищевых продуктов растительного происхождения, отобранных в центральной части европейской территории России [результаты настоящей работы (для картофеля) и данные работы [4]]

Химический элемент	Предел чувствительности δm , мкг (в ЯААМ)	ДУ	Допустимый уровень (ДУ) [11] и реальное содержание, мг/кг			
			содержание			
			лиственные овощи [4]	кукуруза [4]	картофель	яблоки [4]
As	10 ⁻³ –10 ⁻²	0,2	0,02±0,01	0,06±0,02	0,01±0,002	<0,005
Pb	1	0,5	0,23±0,03	<0,02	<0,02	0,06±0,01
Cd	10 ⁻²	0,03	<0,01	<0,01	0,01±0,002	<0,01
Cr	10 ⁻²	–	0,32±0,06	0,84±0,2	0,06±0,03 [4]	0,04±0,01
Se	10 ⁻²	–	<0,05	<0,05	<0,02 <0,05 [4]	<0,05
Zn	10 ⁻²	–	7±3	16±8	3±2; 4±2 [4]	0,3±0,04

развития математических моделей биокинетики. Такие модели должны устанавливать связь между дозами НЧ, вводимых в организм, и эффектами, которые обусловлены накоплением НЧ в органах и тканях, как разового поступления, так и в случае множественной (подострой или хронической) экспозиции [8].

Из двух вариантов активационного анализа – активации до или после введения НЧ в организм животного – привилегированным или даже единственно возможным вариантом является предварительная активация НЧ. Этот выбор особенно важен для НЧ, содержащих биогенные элементы с высоким естественным содержанием в организме (железо, цинк, селен и др.).

Активационный анализ с использованием быстрых протонов

Для выполнения биологической части эксперимента был подготовлен радиоактивный препарат – коллоидный раствор НЧ TiO_2 объемом 25 см³ плотностью 10 мг/см³ (по TiO_2) и активностью 29 кБк/см³ (2,9 кБк/мг TiO_2). Эта величина удельной активности используется для расчета содержания НЧ TiO_2 в органах животного.

Биологическая часть эксперимента была проведена в ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России на 4 экспериментальных группах (по 3–5 особей в группе) и контрольной группе (4 особи) крыс-самцов линии Вистар с исходной массой тела 200–240 г. Животных во время эксперимента содержали в стандартных условиях вивария в специальных клетках, работу на животных выполняли в соответствии с правилами надлежущей лабораторной практики. На фоне стандартного рациона каждой крысе внутрижелудочно был введен 1 см³ из приготовленного коллоидного раствора НЧ TiO_2 . Перед введением крысам суспензию НЧ обрабатывали в течение 15 мин ультразвуком для разрушения в ней агломератов НЧ. Через требуемое время после введения суспензии НЧ животных каждой группы выводили из эксперимента путем эфирной наркотизации. Органы у крыс извлекали через 4 временных интервала, отсчитываемых от момента ввода суспензии: через 4, 24, 48 и 120 ч. Были приготовлены биологические образцы: кровь, мозг, желудок, тонкую и толстую кишку, почки, печень, кал, моча. Извлеченные органы взвешивали, измеряли активность радиоактивной метки в них на высокочувствительной спектрометрической аппаратуре [спектрометр («Canberra», США) в составе: полупроводниковый детектор GC4018, цифровой многоканальный анализатор DSA-1000, компьютер и программное обеспечение Genie-2000 – Genie S501, Genie S502].

Расчет содержания НЧ TiO_2 в органах экспериментального животного через измеренную активность показал чрезвычайно слабое проникновение НЧ TiO_2 через желудочно-кишечный тракт. Их содержание в крови в максимуме (примерно через 24 ч) достигло 0,002% от введенного в желудок количества (ошибка измерения ≈12%). Примерно такое же количество НЧ TiO_2 было обнаружено и в печени. Возможное содержание НЧ TiO_2

в других органах оказалось ниже порога чувствительности, равного примерно 30 нг TiO_2 в данных условиях эксперимента.

В плане практической реализации подобного метода уместно упомянуть исследование биокинетики НЧ TiO_2 при их ингаляционном введении в организм экспериментальных животных (крыс). Оно было проведено в Германии с использованием ЯААМ с активацией Ti быстрыми протонами [10].

Наши результаты по исследованию биокинетики НЧ TiO_2 при их пероральном поступлении и результаты работы [10] показывают, что возможным критическим путем проникновения исследуемых НЧ в организм животного является не пероральное, а ингаляционное поступление.

Эксперимент по исследованию биокинетики наночастиц серебра с использованием инструментального нейтронного активационного анализа

В исследовании использовались НЧ серебра «Argovit-C» (НПЦ «Вектор-Вита», РФ), стабилизированные поливинилпирролидоном. Размер и возможный процесс агрегации исследовали с использованием метода динамического рассеяния света [5]. Данные исследования показали, что НЧ были не агрегированы, а средний размер НЧ составлял примерно 34 нм, что находилось в хорошем согласии с данными производителя.

Экспериментальные исследования были проведены на белых лабораторных нелинейных мышах-самцах SHK исходной массой тела 25–30 г с соблюдением требований регламентирующих документов по лабораторной практике [11–13]. Животных во время эксперимента содержали в стандартных условиях вивария в специальных клетках со стандартным рационом питания в условиях 12-часового цикла «день–ночь».

Изучение процессов биокинетики НЧ серебра проводили в двух вариантах: 1) после разового перорального введения в количестве 100 мкг (6 мышей); 2) после длительного ежедневного перорального введения НЧ серебра в количестве 100 мкг/сут в течение 2 мес и после введения дистиллированной воды в течение одного последующего месяца после отмены введения НЧ (6 мышей). В каждом варианте также использовали контрольные группы по 2 особи. НЧ перорально вводились (в виде коллоидного раствора НЧ концентрацией 0,5 мг/см³).

В соответствии с планом эксперимента мышей подвергали анестезии и проводили забор органов (головной мозг, печень, кровь, почки) и гравиметрические измерения масс всех органов. После чего органы подсушивали в течение 24 ч в сушильном шкафу при температуре 70 °С до состояния вяленых пищевых продуктов.

Одновременно с контрольными и экспериментальными образцами проводили подготовку эталонных образцов, содержащих известное количество серебра.

Дальнейшую работу с образцами, включая облучение на реакторе, измерение активности радиоактивной

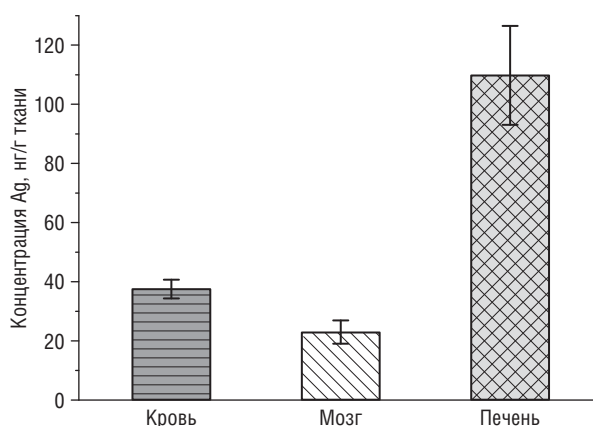


Рис. 1. Максимальная концентрация серебра в органах мышей после разовой пероральной инъекции наночастиц серебра «Argovit-C» в количестве 100 мкг

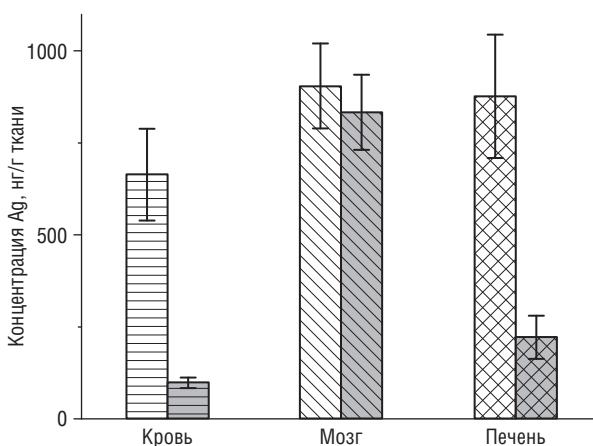


Рис. 2. Концентрация серебра в организме мышей после длительного ежедневного перорального введения наночастиц серебра «Argovit-C» в количестве 100 мкг/сут в течение 2 мес (светлые столбики) и после введения дистиллированной воды в течение одного последующего месяца после отмены введения наночастиц (темные столбики)

метки ^{110m}Ag в них на высокочувствительной спектрометрической аппаратуре и обработку результатов, проводили в соответствии с руководством [5].

Некоторые примеры результатов исследования биокинетики НЧ Ag в экспериментах на мышах SHK методом ИНАА представлены на рис. 1 и 2.

Метод ИНАА может быть использован и для оценки активности изотопа ^{59}Fe – продукта наведенной активности в атомах железа, которое содержится в основном в составе гемоглобина периферической крови. Данные по активности этого изотопа могут быть использованы при оценке доли НЧ серебра, содержащихся в капиллярах головного мозга [12].

Сведения об авторах

Анциферова Анна Александровна – кандидат физико-математических наук начальник лаборатории безопасности нанотехнологии и наноматериалов ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»» (Москва)
E-mail: aiyoga@yandex.ru

Из полученных результатов можно видеть, что НЧ серебра могут преодолевать гематоэнцефалический барьер, а также что скорость выведения из организма НЧ серебра из крови и печени после отмены инъекции НЧ довольно высока (около 80 и 75% в месяц, соответственно), а скорость выведения НЧ серебра из мозга крайне низка (~6% в месяц).

Заключение

Таким образом, методы детектирования химических элементов ЯААМ и РФА могут быть использованы для измерения содержания токсичных элементов, а также микроэлементов в пище, пищевых цепях или других образцах с целью гигиенической оценки качества и безопасности.

Для некоторых элементов (Ti, Pb и др.) необходимо использовать ЯААМ, основанный на активации быстрыми заряженными частицами, или РФА.

Развиваемые методы ЯААФ и РФА определения химических элементов в разных средах предлагается использовать в целях:

- контроля качества и безопасности пищевых продуктов в части обнаружения токсичных элементов, а также микроэлементов;
- исследования на лабораторных животных биокинетики НЧ, поступающих с пищей и водой.

Ядерно-активационные аналитические методы и РФА являются полезным дополнением к другим, неядерным, методам анализа. Благодаря своим свойствам (простота подготовки проб, неразрушающий метод, возможность определения массового содержания элементов как в микро-, так и в макрообразцах) эти методы могут иметь некоторые преимущества при проведении анализа качества и безопасности пищевых продуктов в части достижения необходимой чувствительности и точности. В частности, эти преимущества могут проявиться при анализе образцов с неоднородным содержанием искомых элементов и при исследовании биокинетики контролируемых веществ в организме лабораторных животных при их поступлении из окружающей среды, в том числе с пищевыми продуктами. В ряде исследований биокинетики эссенциальных элементов может быть целесообразное совместное использование ядерных и неядерных методов анализа. В этих случаях каждый из этих методов определяет свой набор физико-химических характеристик контролируемых веществ.

Исследования проведены при финансовой поддержке Минобрнауки России (проект RFMEFI60414X0114).

Демин Вячеслав Александрович – кандидат физико-математических наук, руководитель Курчатовского комплекса НБИКС-технологий ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»» (Москва)

E-mail: demin.vyacheslav@mail.ru

Демин Владимир Федорович – доктор технических наук, кандидат физико-математических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Курчатовского комплекса НБИКС-технологий ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт» (Москва)

E-mail: vfdemin_kiae@mail.ru

Соловьев Владимир Юрьевич – доктор биологических наук, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией анализа техногенных рисков ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России (Москва)

E-mail: soloviev.fmbc@gmail.com

Литература

- Gmshinski I.V., Khotimchenko S.A., Popov V.O. et al. Nanomaterials and nanotechnologies: methods of analysis and control // Russ. Chem. Rev. 2013. Vol. 82, N 1. P. 48–76.
- Кузнецов Р.А. Активационный анализ. М. : Атомиздат, 1974. 343 с.
- Frontasyeva M.V. Neutron activation analysis for the life sciences. a review // Phys. Part. Nucl. Lett. 2011. Vol. 42, N 2. P. 332–378.
- Gorbunov A.V., Lyapunov S.M., Okina O.I. et al. Assessment of human organism's intake of trace elements from staple Foodstuffs in central region of Russia. Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna, 2004. 16 p.
- Demin V.A., Demin V.F., Buzulukov Yu.P. et al. Formation of certified reference materials and standard measurement guides for development of traceable measurements of mass fractions and sizes of nanoparticles in different media and biological matrixes on the basis of gamma ray and optical spectroscopy // Nanotechnol. Russia. 2013. Vol. 8, N 5–6. P. 347–356.
- Сидорина А.В., Трунова В.А. Учет изменения интенсивности пучка синхротронного излучения при регистрации спектров биологических образцов методом РФА-СИ // Аналитика и контроль. 2013. Т. 17, № 1. С. 4–9.
- Buzulukov Yu.P., Arianova E.A., Demin V.F. et al. Bioaccumulation of silver and gold nanoparticles in organs and tissues of rats studied by neutron activation analysis // Biol. Bull. 2014. Vol. 41, N 3. С. 255–263.
- Demin V.A., Gmshinski I.V., Demin V.F., et al. Modeling of inter-organ distribution and bioaccumulation of engineered nanoparticles (on an example of silver nanoparticles) // Nanotechnol. Russia. 2015. Vol. 10, N 3–4. P. 288–296.
- Melnik E.A., Buzulukov Yu.P., Demin V.F., et al. Transfer of silver nanoparticles through the placenta and breast milk during in vivo experiments on rats // Acta Naturae. 2013. Vol. 5, N 3 (18). P. 45–53.
- Wolfgang G. Kreyling, Alexander Wenk, Manuela Semmler-Behnke // Report-no (UBA-FB). 001357, Schriftenreihe Umwelt & Gesundheit, 04/2010. URL: <http://www.uba.de/uba-info-medien-e/4022.html>.
- TP TC 021/2011. О безопасности пищевой продукции.
- Buzulukov Yu., Antsiferova A., Demin V. et al. The method of radioactive tracer for measuring the amount of inorganic nanoparticles in biological samples // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. 2015. Vol. 98. Article ID 012039; doi: 10.1088/1757-899X/98/1/12039.
- Soloviev V.Yu., Antsiferova A.A., Fatkina S.S. et al. Determination of silver nanoparticle concentration ratio in the blood and brain of rats for different administration routes // Nano Hybrids and Composites. 2017. Vol. 13. P. 206–210.

References

- Gmshinsky I.V., Khotimchenko S.A., Popov V.O., et al. Nanomaterials and nanotechnologies: methods of analysis and control. Russ Chem Rev. 2013; 82 (1): 48–76.
- Kuznetsov R.A. Activation analysis. Moscow: Atomizdat, 1974: 343 p. (in Russian).
- Frontasyeva M.V. Neutron activation analysis for the life sciences. a review. Phys Part. Nucl Lett. 2011; 42 (2): 332–78.
- Gorbunov A.V., Lyapunov S.M., Okina O.I., et al. Assessment of human organism's intake of trace elements from staple foodstuffs in central region of Russia. Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna, 2004: 16 p.
- Demin V.A., Demin V.F., Buzulukov Yu.P., et al. Formation of certified reference materials and standard measurement guides for development of traceable measurements of mass fractions and sizes of nanoparticles in different media and biological matrixes on the basis of gamma ray and optical spectroscopy. Nanotechnol Russia. 2013; 8 (5–6): 347–56.
- Sidorina A.V., Trunova V.A. Accounting for changes in the intensity of the synchrotron radiation beam when recording the spectra of biological samples by RFA-SR. Analitika i kontrol' [Analysis and Control]. 2013; Vol. 17 (1). P. 4–9 (in Russian).
- Buzulukov Yu.P., Arianova E.A., Demin V.F., et al. Bioaccumulation of silver and gold nanoparticles in organs and tissues of rats studied by neutron activation analysis. Biol Bull. 2014; 41 (3): 255–63.
- Demin V.A., Gmshinski I.V., Demin V.F., et al. Modeling of inter-organ distribution and bioaccumulation of engineered nanoparticles (on an example of silver nanoparticles). Nanotechnol Russia. 2015; 10 (3–4): 288–96.
- Melnik E.A., Buzulukov Yu.P., Demin V.F., et al. Transfer of silver nanoparticles through the placenta and breast milk during in vivo experiments on rats. Acta Naturae. 2013; 5 (3, 18): 45–53.
- Wolfgang G. Kreyling, Alexander Wenk, Manuela Semmler-Behnke. Report-no (UBA-FB). 001357, Schriftenreihe Umwelt & Gesundheit, 04/2010. URL: <http://www.uba.de/uba-info-medien-e/4022.html>.
- TR CU 021/2011. On Food Safety. (in Russian)
- Buzulukov Yu., Antsiferova A., Demin V., et al. The method of radioactive tracer for measuring the amount of inorganic nanoparticles in biological samples. Materials Science and Engineering. 2015; 98: 012039. doi: 10.1088/1757-899X/98/1/12039.
- Soloviev, V.Yu, Antsiferova A.A., Fatkina S.S., et al. Determination of silver nanoparticle concentration ratio in the blood and brain of rats for different administration routes. Nano Hybrids and Composites. 2017; 13: 206–10.

Для корреспонденции

Боков Дмитрий Олегович – лаборант-исследователь лаборатории химии пищевых продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», ассистент кафедры фармакогнозии ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России
 Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
 Телефон: (495) 698-57-36
 E-mail: fmmsu@mail.ru

Боков Д.О.^{1, 2}, Хромченкова Е.П.¹, Сокуренок М.С.^{1, 2}, Васильев А.В.³, Бессонов В.В.¹

Разработка методики определения инулина в цикории растворимом натуральном после ферментативного гидролиза методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Development of a technique for the determination of inulin in natural instant chicory after enzymatic hydrolysis by high-performance liquid chromatography

Bokov D.O.^{1, 2}, Khromchenkova E.P.¹, Sokurenko M.S.^{1, 2}, Vasilev A.V.³, Bessonov V.V.¹

- 1 ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва
- 2 ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России
- 3 ООО «Славкофе», городской округ Щербинка по г. Москве
- 1 Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow
- 2 I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
- 3 «Slavcoffee», Shcherbinka City District, Moscow

Разработана высокоспецифичная методика оценки содержания инулина в растворимом натуральном цикории, которая базируется на определении фруктозы после ферментативного гидролиза амилоглюкозидазой и инулиназой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с рефрактометрическим детектированием. Определение содержания инулина проводили с использованием системы для высокоэффективной жидкостной хроматографии Agilent 1260 Series с рефрактометрическим детектором на колонке Waters Sugar-Pak 10 мкм × 6,5 мм × 300 мм: элюирование в изократическом режиме (подвижная фаза – вода) со скоростью 0,5 см³/мин, температура колонки – 80 °С, объем вводимой пробы – 10 мкл. Содержание инулина в образцах растворимого натурального цикория колеблется в пределах от 4 до 25%. Показано, что разработанная методика может использоваться для контроля качества продуктов, используемых для приготовления напитков из растворимого натурального цикория.

Ключевые слова: инулин, фруктоза, инулиназа, высокоэффективная жидкостная хроматография, цикорий растворимый натуральный

Для цитирования: Боков Д.О., Хромченкова Е.П., Сокуренок М.С., Васильев А.В., Бессонов В.В. Разработка методики определения инулина в цикории растворимом натуральном после ферментативного гидролиза методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Вопр. питания.* 2017. Т. 86. № 5. С. 50–55.

Статья поступила в редакцию 26.06.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Bokov D.O., Khromchenkova E.P., Sokurenko M.S., Vasilev A.V., Bessonov V.V. Development of a technique for the determination of inulin in natural instant chicory after enzymatic hydrolysis by high-performance liquid chromatography. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition].* 2017; 86 (5): 50–5. (in Russian)

Received 26.06.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

A highly specific technique for estimating inulin content in natural instant chicory based on the determination of fructose after enzymatic hydrolysis with amyloglucosidase and inulinase by high-performance liquid chromatography with refractometric detection has been developed. Determination of inulin content was carried out by a system for high performance liquid chromatography Agilent 1260 Series with a refractometer, Waters Sugar-Pak column of 10 μm \times 6.5 mm \times 300 mm: isocratic elution mode (mobile phase – water) with a flow rate of 0.5 ml/min, column temperature – 80 °C, injected sample volume – 10 μl . Inulin content in samples of soluble natural chicory ranges from 4 to 25%. It has been shown that the developed technique can be applied in the quality control of products used for the preparation of soluble natural chicory beverages.

Keywords: inulin, fructose, inulinase, high-performance liquid chromatography, natural instant chicory

Цикорий растворимый натуральный (ЦРН) – это высушенный водный экстракт измельченных обжаренных корней цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) семейства Астровые (*Asteraceae* Bercht. & J. Presl), который предназначен для быстрого приготовления холодных и горячих напитков, пригодных для непосредственного употребления в пищу как взрослыми, так и детьми (старше 3 лет) [1–3].

В настоящее время для контроля качества ЦРН применяется ГОСТ Р 55512-2013 «Цикорий натуральный растворимый. Технические условия» [1], в котором указаны требования по органолептическим, физико-химическим, микробиологическим показателям, по содержанию токсичных элементов и содержанию углеводов. Согласно стандарту, необходимо определять массовую долю свободных углеводов [фруктозы (5,0–20,0%), глюкозы (2,0–5,0%) и сахарозы (2,0–5,0%)], связанных углеводов [глюкозы (5,0–10,0%) и фруктозы (40,0–60,0%)], содержание которых устанавливают после кислотного гидролиза, а также инулина (не менее 30%) [1].

Наибольший интерес представляет показатель, регламентирующий содержание инулина в конечном продукте. Инулин – это полифруктозан, состоящий из 30–35 остатков фруктозы в фуранозной форме; при гидролизе под действием фермента инулиназы образует D-фруктозу и незначительное количество глюкозы [3]. Инулин является одним из основных компонентов ЦРН, относится к группе растворимых пищевых волокон и применяется в качестве пребиотика, входит в состав функциональных пищевых продуктов [3–5], используется в комплексной терапии синдрома раздраженного кишечника [6], сахарного диабета 2 типа [7] и др. Инулин применяется также в качестве агента, препятствующего окислению липидного компонента при производстве мучных кондитерских изделий [8]. Адекватный уровень потребления инулина (полифруктозаны и др.) [9] составляет 5–10 г/сут, в случае превышения (более 20 г/сут) возможно развитие нежелательных побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта [10].

Следует отметить, что метод определения инулина, изложенный в ГОСТ Р 55512-2013, отличается низкой специфичностью (кислотному гидролизу подвергаются все полисахариды), а также, как показала практика, невысокой межлабораторной воспроизводи-

мостью. Существуют методы оценки содержания инулина в растительном сырье (лопуха большого, подсолнечника однолетнего, девясила высокого) [11–13], основанные на прямом спектрофотометрическом определении полифруктозанов после их кислотной трансформации в окрашенные продукты [5-гидроксиметилфурфурол (НМФ)]. Окрашивание обусловлено способностью углеводов (сахарозы, фруктозы) при нагревании с концентрированными кислотами к образованию продуктов, имеющих поглощение в области 200–380 нм [14]. Эти неспецифичные косвенные методы также дают завышенные результаты и не могут служить для точной количественной оценки. Наиболее перспективными являются методы, основанные на ферментативном гидролизе инулина, с последующим определением высвободившихся моносахаров [15].

Цель работы – разработка высокоспецифичной методики определения содержания инулина в растворимом натуральном цикории с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с рефрактометрическим детектированием (ВЭЖХ-РД) для определения моносахаров после ферментативного гидролиза полифруктозана.

Материал и методы

Анализ проводили с использованием хроматографической системы, состоящей из прибора Agilent 1260 Series («Agilent Technologies», США), насоса (обеспечивает подачу 4 растворителей одновременно), устройства для автоматического ввода проб (автосемплера) с термостатом, термостата хроматографических колонок, рефрактометрического детектора Agilent 1260 Infinity Refractive Index Detector (RID) под управлением программного обеспечения для обработки хроматографических данных ChemStation (ver. B.01); неподвижная фаза – колонка хроматографическая для ВЭЖХ Waters Sugar-Pak («Waters», США), длиной 300 мм и внутренним диаметром 6,5 мм, наполненная микрокристаллическим катионообменным гелем в кальциевой форме с размером пор 10 мкм. Условия проведения хроматографических измерений: элюент – вода по ГОСТ ISO 3696, 2-й степени чистоты; режим элюирования – изократи-

ческий; температура колонки – 80±5 °С; детектирование рефрактометрическое; скорость потока подачи элюента – 0,5 см³/мин; объем пробы – 10 мкл.

Для ферментативного гидролиза применяли амилоглюкозидазу («Sigma-Aldrich», США), инулиназу («Sigma-Aldrich», США). В качестве стандартных образцов использовали фруктозу (≥99,0%, «Sigma-Aldrich», США) и инулин (≥95,0%, «Sigma-Aldrich», США).

В качестве анализируемых проб выступали промышленные образцы цикория натурального растворимого, реализуемые в магазинах и торговых сетях Москвы и Московской области, российских и зарубежных фирм-производителей: ОАО «Русский Продукт», ООО «НоваПродукт АГ», ООО «Штраус», ЗАО «Еремеевское», ООО «Кофейная компания “Вокруг света”», ЗАО «Кофе-цикорный комбинат «АРОНАП», Leroux Fabrique (Франция).

Метод определения инулина базируется на существующем методе определения простых сахаров (фруктозы и др.), изложенном в ГОСТ 31669-2012 [16].

Подготовка проб заключалась в растворении навески образца ЦРН, разведении и ферментативном гидролизе.

Навеску образца 0,5 г (взвешивают с точностью до 0,1 мг) помещают в стакан объемом 100 см³. При постоянном перемешивании добавляют 10 см³ кипящей воды и сразу же проверяют значение pH, оно должно находиться в пределах от 6,5 до 8,0. В случае несоответствия устанавливают значение pH на уровне 4,5±0,2 путем добавления 0,1 М раствора соляной кислоты либо 0,1 М раствора калия гидроксида. Продолжают измерение и регулирование значения pH до того момента, пока навеска полностью не растворится. Затем промывают электрод кипящей водой. Количество переносят раствор в мерную колбу объемом 50 см³, промывают стакан кипящей водой. Помещают колбу на водяную баню и выдерживают в течение 10 мин при 85±2 °С, непрерывно перемешивая.

Раствор охлаждают до комнатной температуры, гомогенизируют, доводят водой до 50 см³. Затем переносят раствор в стакан и продолжают интенсивно перемешивать с помощью магнитной мешалки. Отбирают аликвоту 15 см³ для гидролиза.

На первом этапе гидролиза аликвоту объемом 15 см³ помещают в колбу (50 см³) и добавляют такое же количество ацетатного буфера (pH 4,5). Проверяют значение pH раствора, которое должно находиться в пределах 4,5±0,05. В случае несоответствия корректируют зна-

чение pH путем добавления 0,1 М раствора соляной кислоты либо 0,1 М раствора калия гидроксида. Затем добавляют 50 мкл амилоглюкозидазы (≥260 Ед/мл). Закрывают алюминиевой фольгой, выдерживают смесь в течение 60 мин на водяной бане при температуре 40±2 °С при постоянном слабом перемешивании. Затем остужают до комнатной температуры (20±2 °С).

На втором этапе гидролиза из первого гидролизата отбирают аликвоту 10 см³, добавляют 100 мкл раствора инулиназы (≥280 Ед/мл). Закрывают алюминиевой фольгой, снова выдерживают в течение 30 мин на водяной бане при температуре 40±2 °С при постоянном слабом перемешивании. Отсчет времени начинают с того момента, когда температура реакционной смеси достигнет 40 °С. Затем остужают до комнатной температуры (20±2 °С).

Результаты и обсуждение

Модификации, которые были произведены в процессе разработки метода определения инулина, заключались в изменении подготовки пробы к анализу и не затрагивали метрологических характеристик метода определения простых сахаров.

При этом в эксперименте была произведена оптимизация условий проведения гидролиза инулина. Оптимизации были подвергнуты следующие параметры: pH и температура реакционной смеси, содержащей субстрат и ферменты. С учетом полученных экспериментальных данных (см. таблицу), а также принимая во внимание данные литературы [16], установлены оптимальные значения проведения гидролиза инулина: pH 4,5 и температура 40 °С.

Для количественного определения используют метод абсолютной калибровки (площадь пика или его высоту). Линейность устанавливают на рабочих стандартных растворах фруктозы [17]. Анализ проводят, последовательно измеряя концентрацию сахара в образце и в рабочем стандартном растворе сахара. Типичные примеры ВЭЖХ-РД-хроматографического анализа образца ЦРН представлены на рисунке.

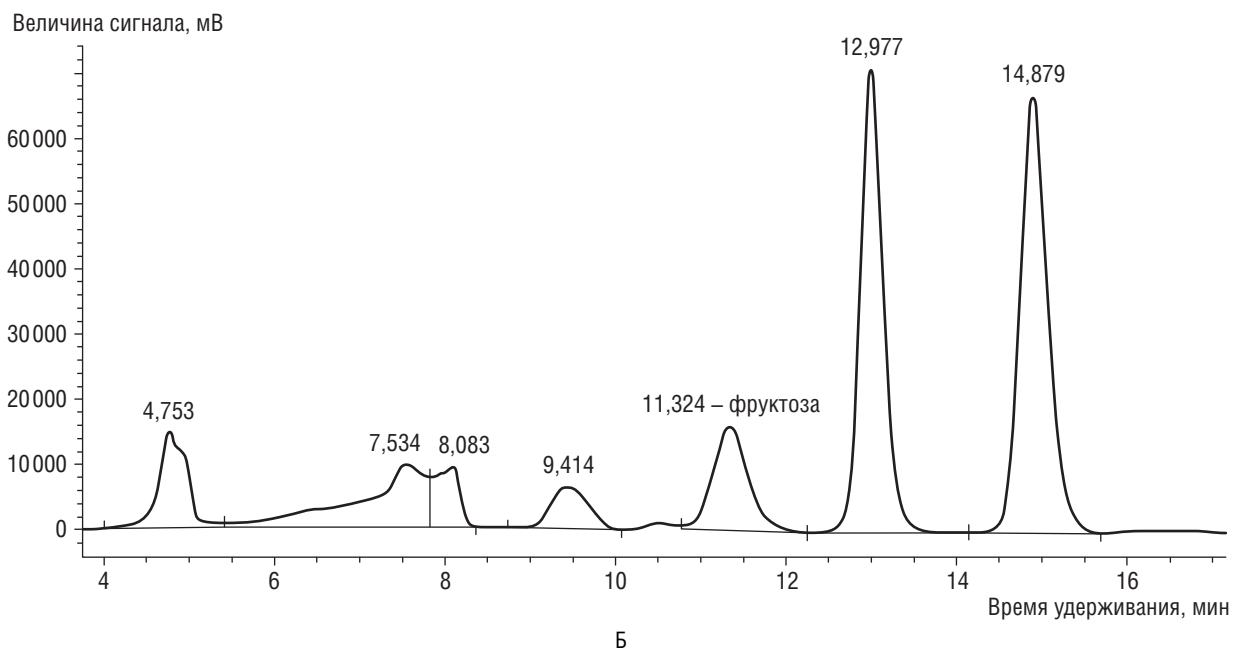
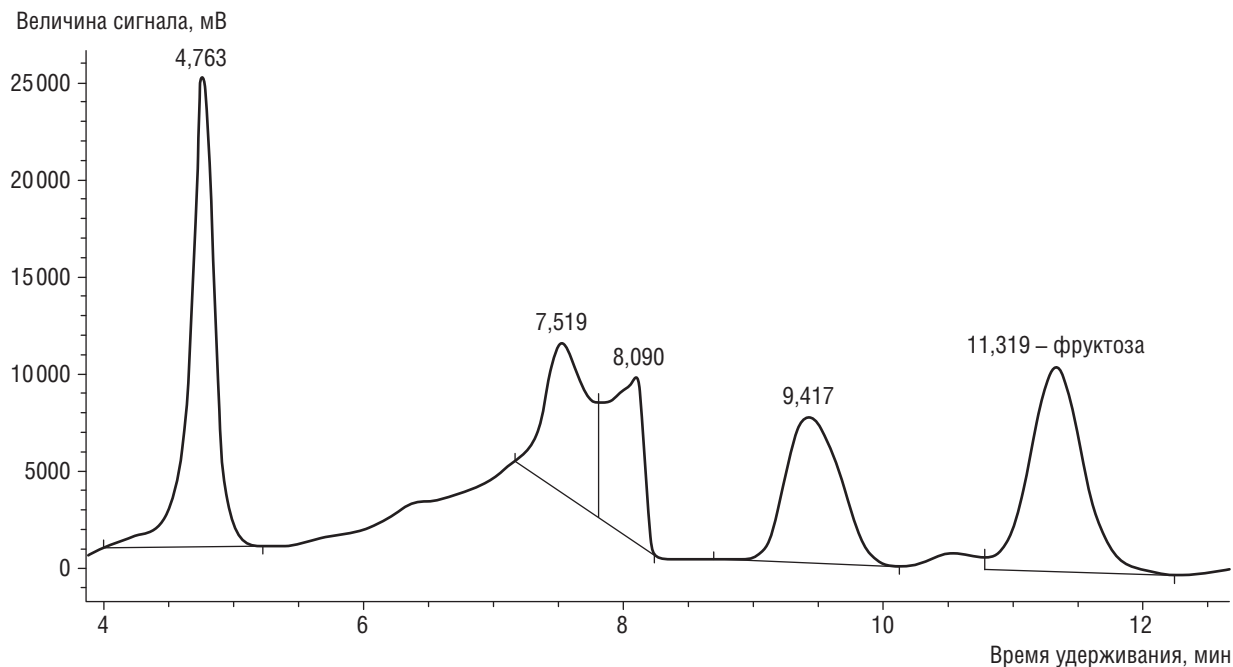
Для расчета содержания инулина определяют содержание фруктозы, выделившейся в результате гидролиза, за вычетом свободной фруктозы, с применением программного комплекса ChemStation.

Методика для определения инулина в ЦРН прошла предварительные валидационные испытания по параметрам специфичность, линейность, правильность (методом добавок стандартных образцов инулина). Следующим этапом разработки настоящего метода является валидация в соответствии с протоколами ICH, проведение широкомасштабного межлабораторного испытания.

В ходе анализа серий образцов ЦРН с применением разработанного метода было установлено, что содержание инулина в образцах колеблется в пределах от 4 до 25%. Перспективным является изучение

Высвобождение фруктозы из инулина в зависимости от условий гидролиза

Условия проведения гидролиза		Высвобождение фруктозы, %	
		амилоглюкозидаза	инулиназа
t=40 °С	При pH 4,5	10,4	12,1
t=60 °С		5,3	6,2
pH 4,5	При t=40 °С	9,6	12,3
pH 7,0		4,8	5,9



Высокоэффективная жидкостная хроматограмма с рефрактометрическим детектированием образца цикория растворимого натурального: А – до гидролиза; Б – после второго гидролиза
Ориентировочное время удерживания фруктозы – 11,5 мин.

зависимости содержания инулина в сырье (корнях цикория) от степени его обжаривания. Этот этап является одним из важнейших в технологии производства напитков из цикория, в процессе которого протекает целый ряд физико-химических и пиролитических процессов, влияющих на содержание инулина в конечном продукте.

На сегодняшний день строгое соблюдение стандартов качества и безопасности пищевых продуктов и напитков можно гарантировать только в случае использования

надежных современных приборов и валидированных методов. Эти приборы и методы должны соответствовать всем требованиям современной нормативной документации. ЦРН представляет собой сложную, многокомпонентную систему, качество которой зависит от свойств сырья и совокупности изменений при технологической обработке и последующем хранении. Разработка современного инструментального физико-химического метода является важным этапом на пути создания современной нормативной документации.

В результате проведенного исследования показана возможность применения методики оценки содержания инулина, основанной на определении фруктозы методом обращенно-фазовой ВЭЖХ-РД после ферментативного гидролиза инулина амилоглюкозидазой и инулиназой, в ЦРН, который поступает на российский рынок. Применение данного метода в контроле качества ЦРН позво-

ляет гарантировать соблюдение оптимального содержания инулина в продукте, обеспечение высокой пищевой ценности и сохранности функциональных свойств ЦРН, поступающего к потребителю.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Боков Дмитрий Олегович – лаборант-исследователь лаборатории химии пищевых продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», ассистент кафедры фармакогнозии ФGAOY BO «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

E-mail: fmmsu@mail.ru

Хромченкова Елена Петровна – научный сотрудник лаборатории химии пищевых продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва)

E-mail: ele5191@yandex.ru

Сокурченко Мария Сергеевна – лаборант-исследователь лаборатории химии пищевых продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», аспирант кафедры фармацевтической технологии ФGAOY BO «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

E-mail: sokmary@mail.ru

Васильев Алексей Вячеславович – кандидат технических наук, менеджер по качеству ООО «Славкофе» (городской округ Щербинка по г. Москве)

E-mail: vasiliev@slavcoffee.ru

Бессонов Владимир Владимирович – доктор биологических наук, заведующий лабораторией химии пищевых продуктов ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва)

E-mail: bessonov@ion.ru

Литература

1. ГОСТ Р 55512-2013 «Цикорий натуральный растворимый. Технические условия (с поправкой)». Дата введения 2015-01-01.
2. Конь И.Я., Тоболева М.А., Сафронова А.И., Елезова Л.И., Аleshina И.В., Гурченкова М.А. Изучение переносимости и эффективности применения растворимого сублимированного цикория в питании детей дошкольного и школьного возраста // *Вопр. питания.* 2016. Т. 85, № S2. С. 194–195.
3. Лузина Е.В. Пищевая ценность цикория // *Вопр. питания.* 2013. Т. 82, № 2. С. 62–65.
4. Бычков И.Н., Рябкина Е.А. Иоактивные метаболиты растений: возможности применения в составе функциональных продуктов питания для коррекции метаболических нарушений // *Вопр. питания.* 2016. Т. 85, № S2. С. 134–135.
5. Королев А.А., Корнева Л.Я., Коптяева И.С., Фазулина О.Ф., Лындина М.И. Разработка пищевых концентратов для рационов здорового питания // *Вопр. питания.* 2016. Т. 85, № S2. С. 195.
6. Пилипенко В.И., Теплюк Д.А., Шаховская А.К., Исаков В.А., Воробьева В.М., Воробьева И.С. и др. Использование многокомпонентного функционального пищевого продукта у больных с синдромом раздраженного кишечника с запорами: результаты сравнительного контролируемого исследования // *Вопр. питания.* 2016. Т. 85, № 2. С. 84–91.
7. Малкина В.Д., Балуйн Х.А., Жиркова Е.В., Мартиросян В.В. Хлебобулочные изделия антидиабетического действия // *Вопр. питания.* 2015. Т. 84, № S5. С. 52.
8. Сидорова Л.Н., Байков В.Г., Бессонов В.В., Скобельская З.Г. Влияние пищевых волокон на сохранность липидного компонента мучных кондитерских изделий // *Вопр. питания.* 2007. Т. 76, № 3. С. 78–81.
9. Методические рекомендации МР 2.3.1.1915-04 «Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ».
10. Оробинская В.Н., Писаренко О.Н. Инулин, леулин и олигофруктоза – пребиотики XXI века // *Перспективы науки.* 2015. № 2 (65). С. 18–23.
11. Копытько Я.Ф. Количественное определение суммы углеводов в пересчете на фруктозу в соке лопуха после конверсии в фураны // *Хим.-фарм. журн.* 2017. Т. 51, № 4. С. 39–41.
12. Пшукова И.В., Коновалов Д.А., Карпенко В.А., Лигай Л.В., Кулешова С.А. Фитохимическое и фармакологическое изучение корней подсолнечника однолетнего // *Химия растительного сырья.* 2014. № 2. С. 189–194.
13. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М. Исследование колориметрической реакции инулина с резорцином в зависимости от условий ее проведения // *Химия растительного сырья.* 2008. № 1. С. 81–87.
14. Руководство Р. 4.1. 1672-03 «Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище» / Минздрав России. М.: Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии, 2004. 240 с.
15. Prosky L., Hoebregs H. Methods to determine food inulin and oligofructose // *J. Nutr.* 1999. Vol. 129, N 7. P. 1418–1423.
16. Rocha J.R. et al. Design and characterisation of an enzyme system for inulin hydrolysis // *Food Chem.* 2006. Vol. 95, N 1. P. 77–82.
17. ГОСТ 31669-2012 «Продукция соковая. Определение сахарозы, глюкозы, фруктозы и сорбита методом высокоэффективной жидкостной хроматографии».

References

1. GOST R 55512-2013 «Natural instant chicory. Specifications (with Amendment)». Date of introduction 01.01.2015. (in Russian)
2. Kon' I.Ya., Tobileva M.A., Safronova A.I., Elezova L.I., Aleshina I.V., Gurchenkova M.A. Study of the transparency and effectiveness

- of instant sublimated chicory application in nutrition of children of preschool and school age. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2016; 85 (S2): 194–95. (in Russian)
3. Luzina E.V. Food value of cichorium intybus. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2013; 82 (2): 62–5. (in Russian)
 4. Bychkov I.N., Ryabkina E.A. Inactive metabolites of plants: the possibility of application in the composition of functional food products for the correction of metabolic disorders. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2016; 85 (S2): 134–5. (in Russian)
 5. Korolev A.A., Korneva L.Ya., Koptyaeva I.S., Fazulina O.F., Lyndina M.I. Development of food concentrates for healthy diets. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2016; 85 (S2): 195. (in Russian)
 6. Pilipenko V.I., Teplyuk D.A., Shakhovskaya A.K., Isakov V.A., Vorobyova V.M., Vorobyova I.S., et al. Using a multicomponent functional food in IBS patients with constipation: a comparative controlled study. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2016; 85 (2): 84–91. (in Russian)
 7. Malkina V.D., Baluyan Kh.A., Zhirkova E.V., Martirosyan V.V. Bakery products of antidiabetic action. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2015; 84 (S5): 52. (in Russian)
 8. Sidorova L.N., Baykov V.G., Bessonov V.V., Skobelskaya Z.G. The influence of dietary fiber on preservation of lipid component in flour confectionery. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2007; 76 (3): 78–81. (in Russian)
 9. Methodical recommendations MP 2.3.1.1915-04 «Recommended levels of consumption of food and biologically active substances» (in Russian)
 10. Orobinskaya V.N., Pisarenko O.N. Inulin, levulin and oligofructose – prebiotics of the 21st century. *Perspektivi nauki* [Science Prospects]. 2015; 2 (65): 18–23. (in Russian)
 11. Kopytko Ya.F. Determination of total carbohydrates (recalculated for fructose upon conversion to furans) in burdock juice. *Khimiko-farmaceuticheskiy zhurnal* [Pharmaceutical Chemistry Journal]. 2017; 51 (4): 39–41. (in Russian)
 12. Pshukov I.V., Konovalov D.A., Karpenko V.A., Ligay L.V., Kuleshova S.A. Phytochemical and pharmacological studying of roots of common sunflower. *Khimiya rastitel'nogo syr'ia* [Chemistry of Plant Raw Material]. 2014; (2): 189–94. (in Russian)
 13. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M. Investigation of the colorimetric reaction of inulin with resorcinol, depending on the conditions of its conduct. *Khimiya rastitel'nogo syr'ia* [Chemistry of Plant Raw Material]. 2008; (1): 81–7. (in Russian)
 14. Guidance R. 4.1. 1672-03 «Manual on methods for quality control and safety of biologically active food supplements». In: Ministry of Health of Russia. Moscow: Federal Center for State Sanitary and Epidemiological Supervision of the Russian Ministry of Health; 2004: 240 p. (in Russian)
 15. Prosky L., Hoebregs H. Methods to determine food inulin and oligofructose. *J Nutr.* 1999; 129 (7): 1418–23.
 16. Rocha J.R., et al. Design and characterisation of an enzyme system for inulin hydrolysis. *Food Chem.* 2006; 95 (1): 77–82.
 17. GOST 31669-2012 «Juice products. Determination of sucrose, glucose, fructose and sorbite by high performance liquid chromatography (HPLC)». Date of introduction 07.02.2013. (in Russian)

Для корреспонденции

Нурисламова Татьяна Валентиновна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией методов газовой хроматографии ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора
 Адрес: 614045, г. Пермь, ул. Монастырская, д. 82
 Телефон: (342) 233-10-37
 E-mail: nurtat@fcrisk.ru

Зайцева Н.В.^{1,3}, Уланова Т.С.^{1,2}, Нурисламова Т.В.^{1,2}, Терентьев Г.И.^{1,4}, Попова Н.А.¹, Мальцева О.А.¹

Определение N-нитрозодифениламина в детских мясных консервах методом хромато-масс-спектрометрии

Determination of N-nitrosodiphenylamine in meat canned food for children by the method of chromat-mass-spectrometry

Zaytseva N.V.^{1,3}, Ulanova T.S.^{1,2}, Nurislamova T.V.^{1,2}, Terentiev G.I.^{1,4}, Popova N.A.¹, Maltseva O.A.¹

- 1 ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, Пермь
- 2 ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет»
- 3 ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России
- 4 ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Пермском крае», Пермь
- 1 Federal Research Center of Medical and Preventive Public Health Risk Management Technologies», Perm
- 2 Perm National Research Polytechnic University
- 3 Academician Ye.A. Vagner Perm State Medical University
- 4 Center for Hygiene and Epidemiology in the Perm Region, Perm

В статье приведены результаты экспериментальных исследований определения низких концентраций N-нитрозодифениламина в мясных консервах для детского питания в диапазоне концентраций 0,027–3,89 мг/кг на основе газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором. Оптимально отработанные условия подготовки проб (экстракция органическим растворителем и твердофазная экстракция) и применение хромато-масс-спектрометрии позволили выполнять определение N-нитрозодифениламина в образцах мясных консервов с высокой селективностью в диапазоне концентраций от 0,016 до 5 мг/кг при погрешности не более 23%. Использование реакции перэтерификации жирных кислот метилатом калия, удаление образовавшихся эфиров из образцов мясных консервов органическим растворителем

Для цитирования: Зайцева Н.В., Уланова Т.С., Нурисламова Т.В., Терентьев Г.И., Попова Н.А., Мальцева О.А. Определение N-нитрозодифениламина в детских мясных консервах методом хромато-масс-спектрометрии // Вопр. питания. 2017. Т. 86. № 5. С. 56–62.

Статья поступила в редакцию 21.04.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Zaytseva N.V., Ulanova T.S., Nurislamova T.V., Terentiev G.I., Popova N.A., Maltseva O.A. Determination of N-nitrosodiphenylamine in meat canned food for children by the method of chromat-mass-spectrometry. Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]. 2017; 86 (5): 56–62. (in Russian)

Received 21.04.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

(гексан), концентрирование N-нитрозодифениламина в водном слое на картриджах автоматической системы твердофазной экстракции обеспечивает извлечение N-нитрозодифениламина из исследуемых образцов мясных консервов на 99,94%. В процессе исследований доказано присутствие N-нитрозодифениламина в образцах мясных консервов «говядина + цыпленок» методом масс-спектральной идентификации в режиме полного сканирования ионов с использованием автоматической системы масс-спектральной идентификации AMDIS.

Ключевые слова: детское питание, мясные консервы, N-нитрозодифениламин, хромато-масс-спектрометрия, твердофазная экстракция

This study demonstrates the results obtained from the GC/MS experimental determination of low concentrations of N-nitrosodiphenylamine in meat canned baby food in the concentration range of 0.027–3.89 mg/kg. The perfect conditions of sample preparation (extraction with organic solvent and solid phase extraction) as well as the application of the chromatography-mass spectrometry allowed us to detect N-nitrosodiphenylamine in samples of the meat canned baby food with high selectivity in concentrations ranged from 0.016 to 5 mg/kg when an error of 23% was assumed. The use of the reaction of transesterification of fatty acids by potassium methylate, the removal of the ester generated from the samples of canned meat by organic solvent (hexane), concentrating of N-nitrosodiphenylamine in the aqueous layer on the cartridges of an automatic solid-phase extraction system provided 99.94% extraction of N-nitrosodiphenylamine from the canned meat samples. The experiment has made evident the presence of N-nitrosodiphenylamine in the samples of canned meat (beef + chicken) with the help of mass-spectrometry method in the mode of full ion scanning using the AMDIS automatic mass-spectral identification system.

Keywords: baby food, canned meat, N-nitrosodiphenylamine, chromatography-mass spectrometry, solid phase extraction

Продовольственная безопасность страны – неотъемлемая часть ее национальной безопасности. Улучшение обеспечения населения, особенно детского, пищевыми продуктами надлежащего качества представляет собой важную социально-экономическую задачу, решение которой имеет огромное значение для России [1].

Обеспечение безопасности пищевых продуктов, в том числе детского питания, по содержанию химических соединений и других загрязнителей регламентируется СанПиН 2.3.2.1078-01, Техническими регламентами Таможенного союза (ТР ТС 021/2011, ТР ТС 034/2013, ТР ТС 033/2013) [2–4]. Вместе с тем далеко не все потенциально опасные и токсичные соединения регламентируются в этих документах. Особую опасность представляет группа высокотоксичных, канцерогенных N-нитрозоаминов (NAS) (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозометилэтиламин, N-нитрозодиэтиламин, N-нитрозопирролидин, N-нитрозоди-n-пропиламин, N-нитрозопиперидин, N-нитрозоди-n-бутиламин, N-нитрозодифениламин), которые определяются практически во всех мясных и рыбных продуктах и контролируются в странах ЕС. По результатам зарубежных исследований (Италия, Дания, Китай) в мясных продуктах были обнаружены N-нитрозоамины, в том числе N-нитрозодифениламин в диапазоне концентраций 0,051–9,4 мг/кг продукта [5–7].

В Техническом регламенте Таможенного союза (ТР ТС 034/2013 Приложение 3) [4] не допускается в консервах

из мяса для питания детей раннего возраста содержание суммы N-нитрозоаминов (N-диметилнитрозоамина и N-диэтилнитрозоамина).

Поступление N-нитрозоаминов в пищевую продукцию возможно в результате добавления нитритов и нитратов в качестве пищевых добавок в мясные продукты с целью совершенствования технологии, сохранения или улучшения качества продукта и пищевых свойств [8, 9]. Нитраты в организме человека восстанавливаются до нитритов, которые способствуют образованию канцерогенных N-нитрозоаминов [10].

Среди группы N-нитрозоаминов по физико-химическим характеристикам особое место занимает N-нитрозодифениламин. Это твердое вещество с высокой температурой кипения – 346,5 °С, не расщепляется растворами щелочей и разбавленных кислот, не подвергается разрушающему действию рассеянного света, обладает слабыми основными свойствами, окисляется до N-нитроаминов, восстанавливается до диалкилгидразинов, в кислой среде отщепляет азотистую кислоту [11]. Эти свойства N-нитрозодифениламина определяют его длительное присутствие в пищевых продуктах.

Цель данного исследования – определение содержания N-нитрозодифениламина в детских мясных консервах с использованием хромато-масс-спектрометрической системы (ГХ/МС) и твердофазной экстракции на этапе подготовки пробы.

Материал и методы

Анализ образцов мясных консервов на содержание N-нитрозодифениламина выполняли с использованием газовой хроматографической системы Agilent 7890A («Agilent Technologies», США) с квадрупольным масс-спектрометрическим детектором (MCD) 5975С. Для разделения использовали кварцевую капиллярную колонку HP-FFAP длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0,25 мкм. Режим программирования колонки: начальная температура 50 °С, повышение температуры до 120 °С со скоростью 8 °С/мин; от 120 до 185 °С со скоростью 12 °С/мин и от 185 до 240 °С со скоростью 25 °С/мин, с выдержкой при конечной температуре 5 мин. В качестве газа-носителя использовали гелий; скорость газа-носителя – 1,0 см³/мин в режиме постоянного потока. Температура аналитического интерфейса 220 °С, время удерживания N-нитрозодифениламина – 21,7 мин. Ввод пробы осуществляли с помощью автосамплера Agilent ALS («Agilent Technologies», США) в режиме pulsed/splitless; объем пробы 2 мкл.

Режим работы масс-спектрометрического детектора (для качественного и количественного анализа в диапазоне низких концентраций 0,016–5,0 мг/кг): селективный ионный мониторинг (SIM) по 3 характеристическим ионам анализируемого соединения 167, 168, 169 m/z, образующимся при отщеплении от молекулы N-нитрозодифениламина группы NO.

Режим сканирования (SCAN) в диапазоне 50–250 m/z использовали для подтверждения структуры изучаемого соединения в более высоком диапазоне концентраций N-нитрозодифениламина (от 0,05 до 1,0 мг/кг) путем сравнения масс-спектров обнаруженного химического соединения в пробе мясных консервов с масс-спектром масс-спектральных данных NIST 08.L для ручной идентификации. Для автоматической идентификации применяли AMDIS библиотеки.

Использовали стандартный раствор (2 мг/дм³) смеси N-нитрозоаминов EPA 521 Nitrosamine Mix (Supelco Analytical, USA), состоящий из N-диметилнитрозоамина, N-метилэтилнитрозоамина, N-диэтилнитрозоамина, N-пирролидиннитрозоамина, N-морфолиннитрозоамина, N-дибутилнитрозоамина, N-дипропилнитрозоамина, N-пиперидиннитрозоамина и N-дифенилнитрозоамина.

Ввиду сложного состава матрицы пищевых продуктов и низкого содержания в них определяемого соединения на этапе подготовки пробы требуется концентрирование, очистка экстракта и селективное выделение анализируемого вещества [12].

Известно, что мясные консервы для детского питания представляют собой измельченное в различной степени мясо (говядину, свинину, баранину, телятину, мясо ягненка, кур, индеек, и др.), к которому может быть добавлен соответствующий мясной бульон, смесь сливочного и растительного масла, обеспечивающие обогащение консервов незаменимыми полиненасыщенными жирными кислотами (линолевой и линоленовой). Вместе

с тем жировой компонент биологического происхождения мешает селективному извлечению N-нитрозодифениламина из пищевого продукта.

Для удаления из исследуемых образцов мясных консервов (навеска 5 г) жиров биогенного происхождения и эффективного извлечения N-нитрозодифениламина выполняли реакцию переэтерификации жиров метилатом калия путем добавления к пробе 10 см³ раствора метилата калия в метаноле концентрацией 162 г/дм³. Затем смесь нагревали при температуре 60–70 °С и данную температуру поддерживали в течение 120 мин для образования метилового эфира жирных кислот. Полученную смесь помещали в центрифужную пробирку объемом 50 см³, добавляли 10 см³ гексана, перемешивали и центрифугировали при 4500 об/мин (центрифуга Erpendorf 5804, «Erpendorf», Германия) в течение 20 мин. Верхний гексановый слой, содержащий эфиры жирных кислот, удаляли дозатором. В оставшийся нижний слой, содержащий N-нитрозодифениламин, глицерин, метанол, добавляли 45 см³ воды, интенсивно встряхивали в течение 10 мин и смесь оставляли на 12 ч при температуре +5 °С для удаления остатков жирных кислот. По истечении 12 ч пробирку со смесью центрифугировали при 4500 об/мин в течение 20 мин с целью отделения остатков мясных консервов от водного слоя и водный слой, содержащий N-нитрозодифениламин, пропускали через угольный картридж «Supelco Superclean Coconut» объемом 6 см³, массой сорбента 2 г, с использованием системы твердофазной экстракции («Separths», Италия).

На основании экспериментальных исследований установлено, что добавление к анализируемой пробе метилата калия объемом 10 см³ для удаления жирового компонента, экстракции метиловых эфиров жирных кислот гексаном, использование картриджей «Supelco Superclean Coconut» твердофазной экстракции на этапе подготовки пробы позволило достичь полноты извлечения N-нитрозодифениламина 99,94% (n=8).

Для количественного определения содержания N-дифенилнитрозамина выполняли хромато-масс-спектрометрический анализ стандартных растворов и на основе результатов измерений строили градуировочную зависимость в режиме селективного ионного детектирования (SIM) по характеристическим ионам соединения 167, 168, 169 m/z (ион 168 m/z использовался для количественного определения, два другие в качестве подтверждающих) в диапазоне концентраций 0,0002–0,0016 мг/кг. Правильность методики оценена методом добавок аналита на трех уровнях концентраций 0,0002, 0,0008 и 0,0016 мг/кг. Погрешность методики составила 23% (табл. 1).

Результаты и обсуждение

На отечественном рынке продуктов детского питания представлен широкий ассортимент мясных консервов

Таблица 1. Метрологические характеристики метода

Диапазон измерений, мг/кг	Повторяемость, σ_r , %	Воспроизводимость, σ_R , %	Точность, $\pm\delta$, %
0,0002–0,0016	2,83	2,63	23,16
0,016 до 5,0	3,54	1,23	15,0

детского питания. Были выполнены скрининговые исследования образцов мясных консервов для детского питания. Для того чтобы проба была представительной, а полученные результаты достоверными, из разных партий отбирали 5 раз навеску образца мясных консервов и проводили подготовку пробы для каждого образца с последующим хромато-масс-спектрометрическим анализом. Результаты исследований представлены в табл. 2.

Пример хроматографического определения извлеченного N-нитрозодифениламина из образца детских мясных консервов «говядина + цыпленок», в котором обнаружена наибольшая концентрация N-нитрозодифениламина в режиме сканирования по селективно избранным ионам m/z 167, 168, 169, представлен на рис. 1.

Дополнительным идентификационным признаком, определяющим, что в образце мясных консервов «говядина + цыпленок» был обнаружен N-нитрозодифениламин, является поиск целевых ионов, реализуемый системой ChemStation. Для этого приводятся результаты хроматографического разделения извлеченных интересующих ионов (целевой m/z 167 и подтверждающие ионы m/z 168, m/z 169, характеризующиеся наибольшей интенсивностью) и показываются в совмещенном виде (рис. 2).

На рис. 2 показано, что профили характеристических ионов N-нитрозодифениламина m/z 168, m/z 169 и m/z 167 по наиболее интенсивным массам совмещаются при совпадении времени удерживания 21,7 мин со стандартным раствором концентрацией

Таблица 2. Содержание N-нитрозодифениламина в образцах мясных консервов ($M \pm m$, $n=5$)

Образец мясных консервов	Содержание N-нитрозодифениламина, мг/кг
Кролик	0,027 \pm 0,011
Свинина	0,036 \pm 0,032
«Говядина + гречка» 1	0,047 \pm 0,037
«Говядина + гречка» 2	1,171 \pm 1,11
Цыпленок	1,166 \pm 1,12
Говядина + цыпленок	3,895 \pm 0,825
Индейка	0,048 \pm 0,008

$S=2,0$ мг/кг, что служит весомым доказательством присутствия данного соединения в образце продукта для детского питания.

Для оценки возможности идентификации N-нитрозодифениламина, обнаруженного в образцах мясных консервов для детского питания, при работе масс-спектрометра в режиме полного сканирования ионов использовали автоматическую систему масс-спектральной идентификации AMDIS. Масс-спектр N-нитрозодифениламина, полученный автоматической системой масс-спектральной идентификации (AMDIS), представлен на рис. 3.

Анализ рис. 3 показал, что масс-спектр N-нитрозодифениламина образца детских мясных консервов совпал с масс-спектром из библиотеки. Программное обеспечение AMDIS позволило не только провести идентификацию соединений на хроматограмме, но и выделить из перекрывающихся пиков «чистый» спектр N-нитрозодифениламина.

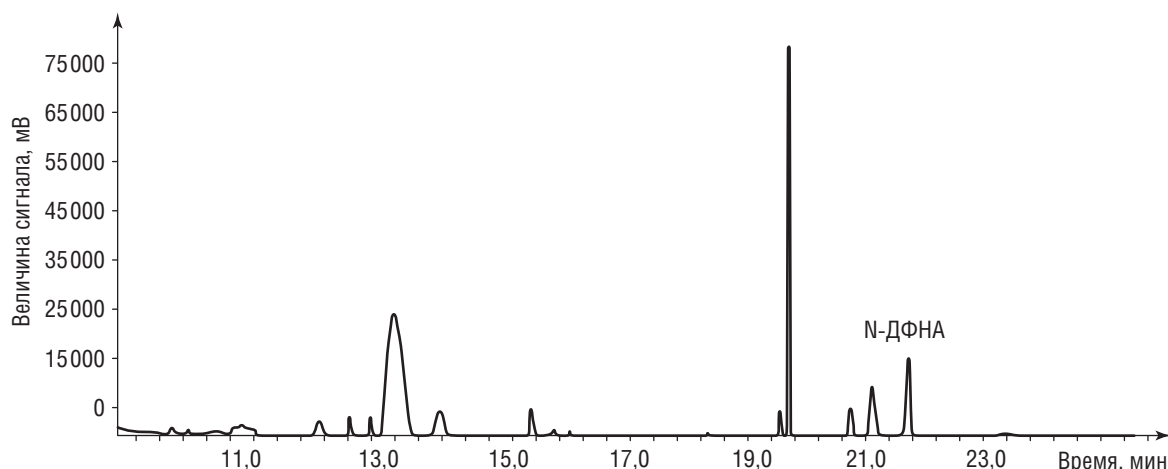


Рис. 1. Хроматограмма извлеченного N-нитрозодифениламина (N-ДФНА) из образца детских мясных консервов «говядина + цыпленок», в режиме регистрации индивидуальных ионов программным обеспечением системы ChemStation

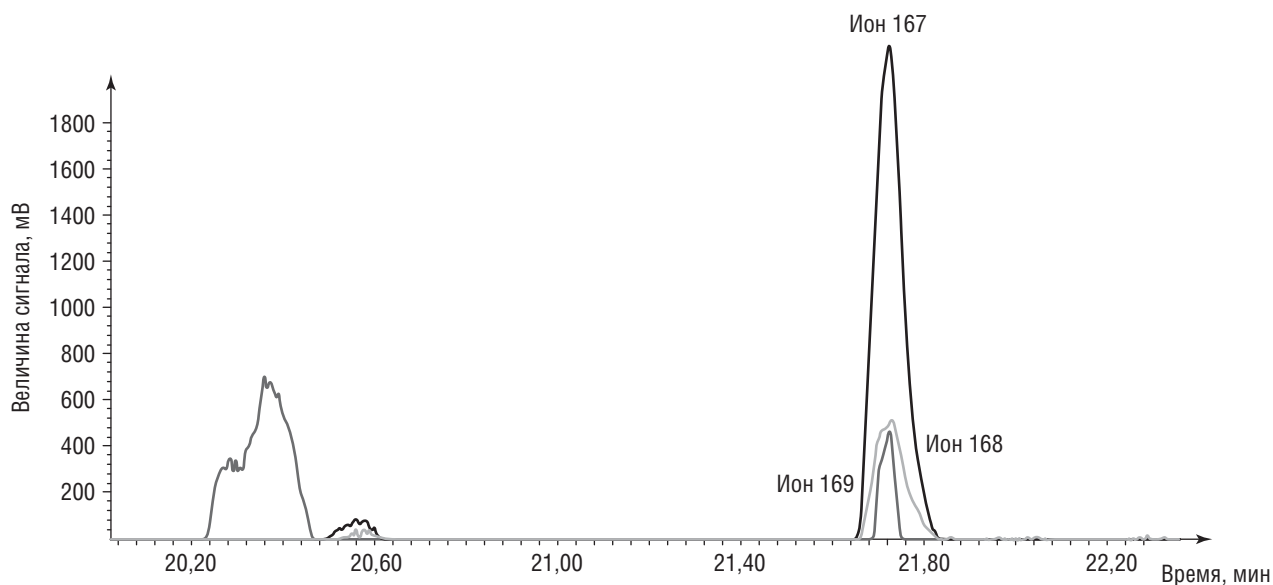
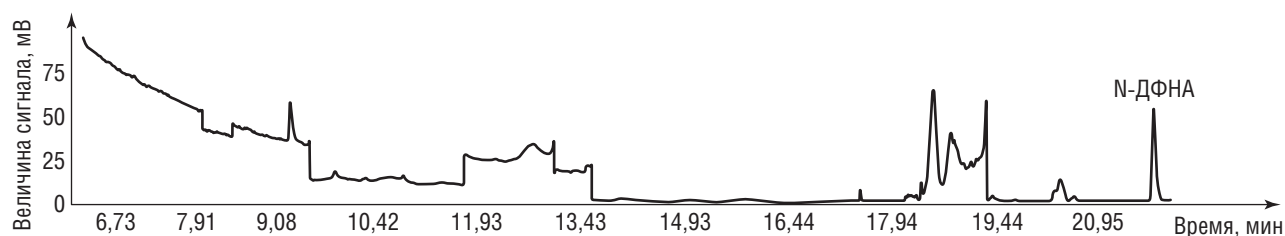
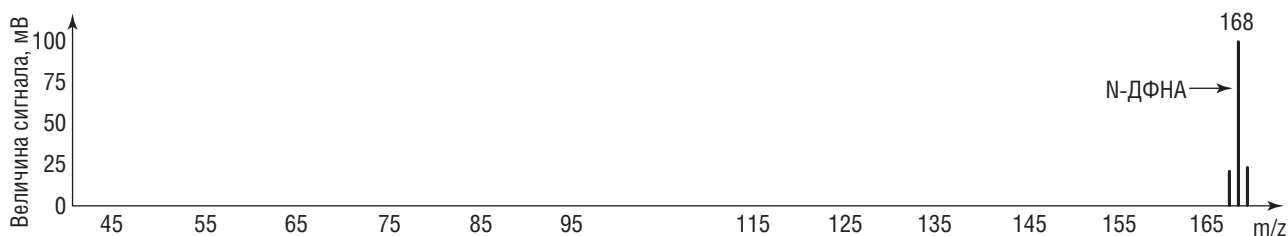


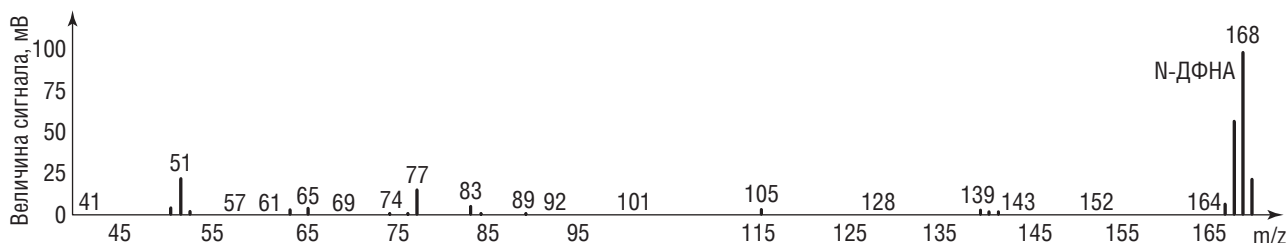
Рис. 2. Хроматограмма разделенных извлеченных индивидуальных ионов N-нитрозодифениламина m/z 168, m/z 169 и m/z 167 в совмещенном виде



А



Б



В

Рис. 3. Масс-спектр N-нитрозодифениламина (N-ДФНА), полученный автоматической системой масс-спектральной идентификации (AMDIS)

А – хроматограмма по полному ионному току (TIC); Б – масс-спектр N-нитрозодифениламина, обнаруженного в образце мясных консервов; В – масс-спектр N-нитрозодифениламина из библиотеки.

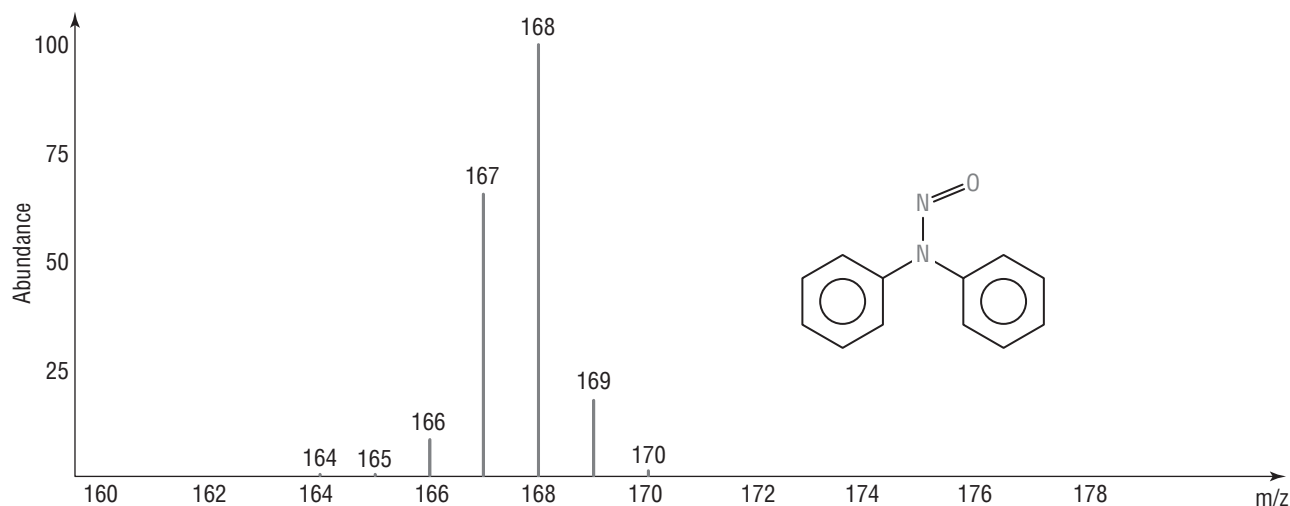


Рис. 4. Масс-спектр N-нитрозодифениламина

Масс-спектр N-нитрозодифениламина с характеристическими ионами и структурная формула из библиотеки масс-спектров представлены на рис. 4.

Полное совпадение профилей характеристических ионов N-нитрозодифениламина по наиболее интенсивным массам m/z 168, m/z 169 и m/z 167 (рис. 4), с учетом совпадения времени удерживания 21,7 мин по стандартному раствору концентрацией $C=0,16$ мкг/см³ позволяет говорить о том, что определяемое соединение идентифицировано и его наличие в образцах пищевых продуктов для питания детей доказано с помощью точного метода проверки автоматической системы масс-спектральной идентификации AMDIS.

Таким образом, анализ различных образцов мясных консервов детского питания методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием позволил определить N-нитрозодифениламин в диапазоне концентраций 0,027–3,89 мг/кг.

Для подтверждения присутствия N-нитрозодифениламина в образцах мясных консервов выполнена идентификация при работе масс-спектрометра в режиме полного сканирования ионов автоматической системой масс-спектральной идентификации AMDIS. Масс-спектр N-нитрозодифениламина по характеристическим ионам в исследованных образцах мясных консервов совпадает с масс-спектром библиотеки масс-спектральных данных.

Сведения об авторах

Зайцева Нина Владимировна – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, Пермь

E-mail: root@fcrisk.ru

Уланова Татьяна Сергеевна – доктор биологических наук, заведующая отделом химико-аналитических методов исследования ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, Пермь

E-mail: ulanova@fcrisk.ru

Нурисламова Татьяна Валентиновна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией методов газовой хроматографии ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, Пермь

E-mail: nurtat@fcrisk.ru

Терентьев Геннадий Ильич – заведующий отделением физико-химических методов исследования ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Пермском крае», Пермь

E-mail: 2715743t@mail.ru

Попова Нина Анатольевна – старший научный сотрудник лаборатории методов газовой хроматографии ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, Пермь

E-mail: root@fcrisk.ru

Мальцева Ольга Андреевна – химик лаборатории методов газовой хроматографии ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, Пермь

E-mail: root@fcrisk.ru

Литература

1. Указ Президента РФ от 30.01.2010 № 120 «Об утверждении Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации».
2. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов. Санитарные правила и нормы 2.3.2.1078-01. М., 2002.
3. ТР ТС 021/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции».
4. ТР ТС 034/2013 «Гигиенические требования безопасности продуктов убоя, предназначенных для производства мясной продукции для детского питания».
5. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691515000873>.
6. Herrmann S.S., Duedahl-Olesen L., Granby K. Simultaneous determination of volatile and non-volatile nitrosamines in processed meat products by liquid chromatography tandem mass spectrometry using atmospheric pressure chemical ionisation and electrospray ionization // J. Chromatogr. A. 2014. Vol. 1330. P. 20–29.
7. Al-Kaseem M., Al-Assaf Z., Karabeet F. Determination of seven volatile N-nitrosamines in fast food // Pharmacol. Pharm. 2014. Vol. 5. P. 195–203.
8. Шаулина Л.П., Корсун Л.Н. Контроль качества и безопасности пищевых продуктов и продовольственного сырья : учеб. пособие. Иркутск : Изд-во ИГУ, 2011. 111 с.
9. Жукова Г.Ф., Торская М.С., Родин В.И. N-нитрозамины и нитриты в мясе и мясопродуктах // Вопр. питания. 1999. № 4. С. 32–34.
10. Комарова В.И. Метаболизм нитратов в ротовой жидкости человека : автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2001. 20 с.
11. Зулфигаров О.С., Юрченко В.В., Каширина Н.В., Стадничук Н.А. К вопросу об определении N-нитрозоаминов в пищевых продуктах. Киев : Институт экологии и токсикологии им. Л.И. Медведя, 2004.
12. Ярошенко Д.В., Карцова Л.А. Матричный эффект и способы его устранения в биоаналитических методиках, использующих хромато-масс-спектрометрию // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69, № 4. С. 1–8.

References

1. The presidential decree of the Russian Federation of January 30, 2010 N 120 «About approval of the Doctrine of food security of the Russian Federation». (in Russian)
2. Hygienic requirements for quality and safety of food raw materials and food products. Sanitary norms and rules 2.3.2.1078-0. Moscow, 2002. (in Russian)
3. Technical Regulations of the Customs Union (TR CU) 021/2011 «On safety of food products». (in Russian)
4. Technical Regulations of the Customs Union (TR CU) 034/2013 «On safety of meat and meat products». (in Russian)
5. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691515000873>.
6. Herrmann S.S., Duedahl-Olesen L., Granby K. Simultaneous determination of volatile and non-volatile nitrosamines in processed meat products by liquid chromatography tandem mass spectrometry using atmospheric pressure chemical ionisation and electrospray ionization. J Chromatogr A. 2014; 1330: 20–9.
7. Al-Kaseem M., Al-Assaf Z., Karabeet F. Determination of seven volatile N-nitrosamines in fast food. Pharmacol Pharm. 2014; 5: 195–203.
8. Shaulina L.P., Korsun L.N. Quality and safety control of food and raw materials: tutorial. Irkutsk: Izdatel'stvo IGU, 2011: 111 p. (in Russian)
9. Zhukova G.F., Torskaya M.S., Rodin V.I., Khotimchenko S.A. N-nitrosamines and nitrites in meat and meat food-stuffs. Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]. 1999; (4): 32–4. (in Russian)
10. Komarova V.I. Nitrate metabolism of human oral fluid: Autoabstract of Diss. Saint Petersburg, 2001: 20 p. (in Russian)
11. Zulfigarov O.S., Yurchenko V.V., Kashirina N.V., Stadnichuk N.A. On the determination of N-nitrosamines in food. Kiev: Institute of Ecohygiene and Toxicology named after L.I. Medved'; 2004. (in Russian)
12. Yaroshenko D.V., Kartsova L.A. Matrix effects and ways to eliminate it in bioanalytical methods using gas chromatography-mass spectrometry. Zhurnal analiticheskoy khimii [Journal of Analytical Chemistry]. 2014; 69 (4): 1–8. (in Russian)

Для корреспонденции

Римарева Любовь Вячеславовна – академик РАН, доктор технических наук, главный научный сотрудник отдела биотехнологии ферментных препаратов, дрожжей, органических кислот и биологически активных добавок Всероссийского научно-исследовательского института пищевой биотехнологии – филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»
 Адрес: 111033, г. Москва, ул. Самокатная, д. 46
 Телефон: 8 (495) 362-45-72
 E-mail: lrimareva@mail.ru

Римарева Л.В., Серба Е.М., Соколова Е.Н., Борщева Ю.А., Игнатова Н.И.

Ферментные препараты и биокаталитические процессы в пищевой промышленности

Enzyme preparations and biocatalytic processes in the food industry

Rimareva L.V., Serba E.M., Sokolova E.N., Borshcheva Yu.A., Ignatova N.I.

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва
 All-Russian Institute of Food Biotechnology, Moscow

Ферментные препараты играют существенную роль в биотехнологических процессах получения пищевой продукции. Представлены классификация ферментов, специфичность их действия на различных субстратах и процессы получения ферментных препаратов на основе микроорганизмов – продуцентов ферментов. Проведен мониторинг мирового и отечественного рынка ферментных препаратов, используемых в пищевой промышленности. Рассмотрены вопросы эффективной биоконверсии различных видов растительного сырья для повышения качества получаемых соков, морсов, снижения вязкости и увеличения выхода биологически ценных компонентов для производства функциональных пищевых продуктов; микробного сырья – для получения белково-аминокислотных, витаминных обогатителей пищи, а также пищевых ингредиентов; животного сырья – для интенсификации технологических процессов, переработки отходов мясной, молочной промышленности, а также в сыроделии для повышения качества выпускаемой продукции. Предлагаемый обзор представляет научно-практический интерес для специалистов в области биотехнологии производства пищевых продуктов, получаемых на основе ферментативной конверсии различных видов сельскохозяйственного сырья.

Ключевые слова: ферментные препараты, биотехнология, субстратная специфичность, конверсия, ресурсосберегающая технология, сельскохозяйственное сырье, пищевые продукты

Enzyme preparations are essential to biotechnological processes for the production of food. Classification of enzymes, the specificity of their action on various substrates and processes of obtaining enzyme preparations based on various microorganisms-producers of enzymes are presented. Overview of the world and internal market of enzyme preparations used in the food industry is provided. The issues of efficient bioconversion of different plant materials to improve the quality of juices, fruit drinks, reducing the viscosity and increasing the productivity of biologically valuable components for functional products are considered; microbial raw materials – to produce protein or amino acid and vitamin

Для цитирования: Римарева Л.В., Серба Е.М., Соколова Е.Н., Борщева Ю.А., Игнатова Н.И. Ферментные препараты и биокаталитические процессы в пищевой промышленности // *Вопр. питания*. 2017. Т. 86. № 5. С. 62–74.

Статья поступила в редакцию 14.08.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Rimareva L.V., Serba E.M., Sokolova E.N., Borshcheva Yu.A., Ignatova N.I. Enzyme preparations and biocatalytic processes in the food industry. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2017; 86 (5): 62–74. (in Russian)

Received 14.08.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

enriched foods, as well as food ingredients; animal raw materials – for intensification of technological processes, for processing of wastes of meat, dairy industry, as well as in cheese making to improve the quality of products. The review is of scientific and practical interest for specialists in the field of biotechnology of food production of high quality food obtained by the enzymatic conversion of different types of agricultural raw materials.

Keywords: *enzymes, biotechnology, substrate specificity, conversion, resource-saving technology, agricultural raw materials, food*

Перспективным направлением совершенствования технологических процессов в перерабатывающих отраслях пищевой промышленности является использование высокоактивных биологических катализаторов, способствующих существенному увеличению выхода, повышению качества и продлению сроков хранения готовой продукции [1, 2]. Кроме того, ферментативный катализ позволяет радикально изменять функционально технологические свойства сырья на различных этапах его переработки, открывая тем самым широкие возможности создания принципиально новых легкоусвояемых продуктов, в том числе специализированной пищевой продукции.

Большинство пищевых технологий основаны на биокаталитических методах конверсии сельскохозяйственного сырья [3–5]. Наиболее масштабно используют ферментные препараты микробного происхождения в спиртовой и пивоваренной (порядка 60% от общего объема ферментных препаратов), хлебопекарной, кондитерской, крахмало-паточной, сыродельной (до 20%) отраслях промышленности. Применение отечественных биокатализаторов позволяет не только интенсифицировать существующие биотехнологические процессы в пищевой промышленности, но и создать конкурентоспособную продукцию нового поколения с заданными свойствами, произвести импортозамещение.

Ферменты: классификация и специфичность

Ферментативный катализ субстратов растительного, животного и микробного происхождения обеспечивает радикальное изменение функциональных свойств и фракционного состава сырья на различных этапах его переработки, открывая широкие возможности создания принципиально новых видов пищевой продукции.

По современной классификации, принятой Комитетом по номенклатуре Международного союза биохимиков и молекулярных биологов (NC-IUBMB), все ферменты делятся на 6 основных классов по типу катализируемой реакции [6]: оксидоредуктазы (окислительно-восстановительные реакции); трансферазы (реакции переноса групп); гидролазы (реакции присоединения или отщепления молекулы воды); лиазы (реакции отщепления или присоединения групп негидролитическим путем по двойной связи); изомеразы (реакции изомеризации);

лигазы, или синтетазы (реакции присоединения друг к другу двух молекул, сопряженные с расщеплением пирофосфатной связи).

Большинство ферментов, применяемых в пищевой промышленности, относятся к **3-му классу – гидролазы**, который включает 11 подклассов [7]. Гидролазы катализируют гидролитические реакции в процессах биоконверсии субстратов растительного, животного и микробного происхождения. Наименование гидролаз составляют по форме: «субстрат–гидролаза».

Гидролитические ферменты 3-го класса подразделяют на подклассы в зависимости от специфичности их действия при каталитическом расщеплении определенных связей: 3.1 – сложноэфирных связей; 3.2 – гликозидных связей; 3.3 – эфирных связей; 3.4 – пептидных связей; 3.5 – связей C–N, отличных от пептидных; 3.6 – кислотно-ангидридных связей; 3.7 – связи C–C; 3.8 – галоидалкидных связей; 3.9 – связей P–N; 3.10 – связей S–N; 3.11 – связей C–P.

Наибольший интерес для специалистов в области пищевой биотехнологии представляют 3 подкласса ферментов класса гидролаз (3.1, 3.2 и 3.4). К ним относятся эстеразы (пектинэстераза действует на пектин в растительных субстратах); гликозидазы (амилазы, гемицеллюлазы, катализирующие гидролиз гликозидных связей в поли- и олигосахаридах); протеазы, способные катализировать гидролиз белковых веществ.

Субстратами для гидролитических ферментов являются полимеры, которые служат объектом действия на них ферментов с соответствующей **субстратной специфичностью**. В процессе ферментативного гидролиза происходит образование фермент-субстратного комплекса, который претерпевает внутримолекулярную перегруппировку под влиянием активного центра фермента [8]. Катализированный разрыв ангидридной связи субстрата приводит к выделению из фермент-субстратного комплекса одного из продуктов реакции. Второй продукт выделяется после группировок, связанных с присоединением воды.

«Узнаваемость» ферментом полимерного субстрата может достигаться большим количеством контактов. Каждая молекула полимерного субстрата фактически представляет собой целый спектр реакционных центров с различной реакционной способностью. При этом реакционная способность полимеров, как правило, убывает в ходе его ферментативной деструкции.

Специфичность действия. Ферменты обладают высокой избирательной способностью взаимодействия с субстратом и высокой специфичностью по отношению к катализируемым реакциям. При этом различают **стереоспецифичность, абсолютную и относительную специфичность.**

Практически отсутствуют ферменты, обладающие абсолютной специфичностью и катализирующие только одну реакцию. Однако некоторые ферменты можно условно отнести к этой категории, как катализирующие одну реакцию с существенно более высокой скоростью, чем другие, которыми можно пренебречь. Так, например, глюкозооксидаза, катализирующая окисление D-глюкозы до глюконовой кислоты, участвует в каталитическом окислении еще ряда субстратов (маннозы, лактозы, мальтозы и др.), но скорость этих реакции более чем на порядок ниже. Поэтому глюкозооксидазу условно считают ферментом, обладающим абсолютной специфичностью.

Ферменты, проявляющие относительную или групповую специфичность, действуют на группу близких по строению субстратов. При этом каждый индивидуальный фермент проявляет свои характерные особенности воздействия на тот или иной субстрат. Предполагается, что в активном центре фермента условно присутствуют два участка: сорбционный и каталитический. При этом ферменты переменны по структурам сорбционных участков центров и строго консервативны по структурам каталитических участков [9].

Для гидролаз подкласса 3.1 (эстераз) характерна относительная субстратная специфичность, т.е. способность гидролизовать сложноэфирные связи между радикалами различного вида. Эстеразы расщепляют моно-, ди-, триацилглицеролы и др. соединения, содержащие сложноэфирную связь. Скорость расщепления зависит от структуры субстрата.

Липазы проявляют позиционную специфичность: предпочтительно гидролизуют сложноэфирную связь при C₁ и C₃ глицерола, а также проявляют избирательность в отношении длины цепи отщепляемых жирнокислотных остатков.

Протеазы (подкласс 3.4) обладают групповой специфичностью по отношению к белкам и пептидам. При этом пепсин предпочтительно катализирует расщепление пептидной связи между тирозином и фенилаланином, особенно при наличии свободной карбоксильной группы. Химотрипсин воздействует на пептидные связи, образованные карбоксильными группами ароматических аминокислот.

Ферменты обладают способностью воздействовать не только на различные субстраты, но и катализировать различные биохимические реакции. Так, например, трипсин катализирует гидролиз пептидных связей, образованных карбоксильной группой аргинина или лизина, а также амидных связей и сложноэфирных связей между аминокислотой и спиртом [10].

Гликозидазы (подкласс 3.2) стереоспецифичны. Например, амилазы и β-глюканазы катализируют гидролиз

гликозидных связей определенной пространственной конфигурации (α- или β), но не обеих одновременно. Менее строгая избирательность проявляется к различным видам α- или β-гликозидных связей. Так, глюкоамилаза расщепляет α-1,4 и α-1,6-связи; дрожжевая глюканаза – β-1,3 и β-1,4-связи и т.д.

Гликозидазы специфичны в отношении длины цепи: для глюкоамилазы из плесневых грибов предпочтительны высокомолекулярные субстраты (декстрины), а для дрожжевых – олигосахариды с меньшей молекулярной массой. Скорость гидролиза углеводов может зависеть от наличия определенных замещающих групп в углеводных остатках. Некоторые гликозидазы гидролизуют только линейные полимеры и т.д.

Гидролитические ферменты подразделяют на 2 типа по характеру протекания процесса расщепления субстрата: **эндо- и экзодействия** [7–10]. **Эндоферменты** катализируют неупорядоченное расщепление внутримолекулярных связей полимерной молекулы с образованием в начальной стадии гидролиза крупных фрагментов различной величины. То есть атакуются связи субстрата, расположенные на достаточном удалении от концов полимерной молекулы. К ним относятся многие ферменты класса гидролаз (α-амилаза, пуллулаза, эндо-β-глюканаза, протеиназа и др.). **Экзоферменты** катализируют последовательное отщепление фрагментов молекулы субстрата, чаще мономеров или димеров, от определенного конца полимерной цепи. Возможно, активный центр таких ферментов устроен в виде кармана, направленного вглубь белковой молекулы, он позволяет вместить не более определенного числа мономерных звеньев субстрата. К ним относятся глюкоамилаза, экзо-β-глюканаза, пептидазы, β-ксилозидазы и др.

Для глубокой деструкции полимеров сельскохозяйственного сырья происходит взаимное усиление действия ферментов, достигаемое тем, что один фермент эндодействия поставляет субстрат для фермента экзодействия.

Перспективные направления развития ферментных технологий в пищевой промышленности

Анализ мирового биотехнологического рынка показывает, что основным коммерческим продуктом являются ферментные препараты. Их производство постоянно возрастает. Объем производства отечественных ферментных препаратов в настоящее время составляет около 1000 т в год, а потребность – порядка 18 000 т/год. В результате в страну ежегодно завозится по импорту ферментных препаратов на сумму около 500 млн долларов США. Наиболее масштабно используют ферментные препараты микробного происхождения, особенно гидролитического действия.

Ключевым фактором в биотехнологии ферментных препаратов является штамм – продуцент целевых ферментов, необходимых для эффективной конверсии полимеров сельскохозяйственного сырья. В последнее



Перспективные направления по созданию ферментных технологий

время методами генной инженерии и индуцированного мутагенеза получены высокоактивные штаммы микроорганизмов – продуцентов промышленных ферментов, активность которых существенно увеличена [11–16]. Перспективным направлением является разработка на основе новых высокоактивных рекомбинантных и мутантных штаммов усовершенствованных биотехнологий конкурентоспособных ферментных препаратов целевого назначения, необходимых для практической реализации ферментных технологий пищевой промышленности (см. рисунок). При создании биокаталитических технологий учитывается не только полимерный состав сельскохозяйственного сырья, но и субстратная специфичность синтезируемых ферментов и механизм их действия.

В результате выявленных закономерностей процессов биокатализа полимеров растительных, животных и микробных субстратов разрабатываются научные основы биотехнологии ферментных препаратов для повышения эффективности биотехнологических процессов в перерабатывающих отраслях, для создания новых видов пищевой продукции, пищевых ингредиентов, биологически активных добавок. В результате созданы ферментные препараты целевого назначения для применения их в биотехнологических процессах пищевых производств [17–26]. Например, для эффективного биокатализа полимеров **зернового сырья** в спиртовой, пивоваренной, крахмало-паточной, хлебопекарной и других отраслях промышленности необходимы ферментативные системы, осуществляющие конверсию крахмала (α -амилазы, глюкоамилазы, пуллулазы), некрахмальных полисахаридов (ксилазы, β -глюканазы и целлюлазы) и белковых веществ (протеазы) [15, 27–30], что позволяет интенсифицировать биотехнологические процессы, повысить выход и качество продукции.

Для **кондитерской** промышленности необходимы комплексные ферментные препараты амилолитического и протеолитического действия взамен химических реагентов для повышения эластичности теста в производстве крекеров, интенсификации технологических процессов, повышения качества кондитерских изделий [17]. Для **сокоморсовой и ликеро-водочной** промышленности – ферментативные системы (полигалактуроназы, пектинэстеразы, пектинлиазы, гемицеллюлазы и протеазы), осуществляющие деструкцию полимеров плодово-ягодного сырья [18, 20]. Применение комплексных ферментных препаратов целевого назначения позволяет повысить выход сока и его органолептические характеристики, повысить стойкость напитков при хранении. В **молочной промышленности** используется широкий спектр ферментных препаратов протеолитического действия, регулирующих функциональные свойства молочных продуктов, и корректирующие их структурные показатели на тех или иных этапах технологических процессов [19, 31].

Для гидролиза **микробной биомассы** подобраны оптимальные ферментативные системы, позволяющие осуществлять регулируемый процесс биокатализа полисахаридов клеточных стенок (β -глюканазы, маннаназы, протеиназы и хитиназы), белков протоплазмы и нуклеиновых кислот (пептидазы, протеиназы и нуклеазы) с получением биологически активных добавок функционального назначения, белково-аминокислотных и витаминных обогатителей пищи, пищевых ингредиентов [32–35].

Для гидролиза животного сырья в **сыроделии, молочной, мясной промышленности** широко применяют ферментные препараты – источники комплекса кислых и нейтральных протеаз с целью интенсификации технологических процессов, повышения качества продукции, эффективной переработки отходов [31, 36, 37].

Применение **липолитических ферментов** перспективно в тех отраслях пищевой промышленности, где необходим частичный или полный гидролиз жиров [38–40]. Каталитическая особенность липаз заключается в способности перераспределять жирные кислоты в реакционной смеси и замещать ими другие, входящие в состав глицеридов, осуществляя, таким образом, реакции этерификации.

Биокаталитические процессы в пищевых технологиях

Ферментные препараты являются важным фактором, способствующим глубокой переработке сельскохозяйственного сырья, повышению выхода, качества и сохранности готовой продукции. Ферментативный катализ субстратов обеспечивает радикальное изменение функциональных свойств и фракционного состава сырья на различных этапах его переработки, расширяет возможности совершенствования традиционных пищевых технологий, а также создания новых видов пищевых продуктов.

С использованием генетически модифицированных штаммов микроорганизмов, синтезирующих ферменты с различной субстратной специфичностью и механизмом действия, разработаны комплексные ферментные препараты целевого назначения. В основу теоретического обоснования подбора ферментной системы положены знания о составе сырья и наличия в нем субстратов для биокаталитической конверсии ферментами, а также прогнозируемые результаты о заданной степени деструкции и предполагаемом составе продуктов гидролиза.

Основные характеристики ферментных препаратов для пищевой промышленности, а также способы их воздействия на субстрат, области и эффективность применения в перерабатывающих отраслях приведены в таблице.

Биокаталитическая конверсия крахмалсодержащего сырья

Для гидролиза крахмала используют ферменты **амилолитического действия**. К ним относятся ферменты разжижающего, декстринирующего и осахаривающего

Характеристика ферментных препаратов (ФП) для пищевой промышленности

Основной фермент в ферментном комплексе	Продуценты	Оптimum действия ФП		Способ воздействия на субстрат и задачи применения ФП	Область применения и эффективность
		t °C	pH		
1	2	3	4	5	6
<i>I – биоконверсия крахмала (α-амилаза, глюкоамилаза, пуллулаза)</i>					
Бактериальная α-амилаза	<i>Bacillus subtilis</i>	60–70	5,5–7,0	Для разжижения и декстринизации крахмала	В спиртовом, крахмалопаточном, пивоваренном, хлебопекарном производствах для снижения вязкости зерновых замесов, увеличения выхода и качества целевого продукта
Термостабильная α-амилаза	<i>Bacillus licheniformis</i> <i>B. stearothermophilus</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>	85–95 70–90 60–97	6,0–7,0 5,0–6,0 5,0–6,5	То же То же То же	
Грибная α-амилаза	<i>Aspergillus oryzae</i>	50–55	4,5–5,5	Для гидролиза крахмала до декстринов, олигосахаридов и мальтозы	
Глюкоамилаза	<i>Aspergillus awamori</i>	55–60	4,3–5,0	Для осахаривания частично расщепленного крахмала до глюкозы	В производстве спирта, пива, кристаллической глюкозы, глюкозо-фруктозных сиропов для интенсификации процессов и увеличения выхода готовой продукции
Пуллулаза	<i>Aspergillus niger</i>	55–65	4,1–4,5	Для гидролиза α-1,6-связей в амилопектине и предельных декстринах до мальтоолигосахаридов	
	<i>Aerobacter aerogenes</i> <i>Bacillus pullulans</i>	58–65	4,0–6,0		
<i>II – биоконверсия белков (протеазы, трансглутаминаза)</i>					
Бактериальные протеазы (протеаза Б)	<i>Bacillus subtilis</i>	50–60	6,5–10,0	Для гидролиза белков до пептидов с различной молекулярной массой	В производстве спирта, вина, пива, белково-аминокислотных ингредиентов, биологически активных добавок хлебобулочных изделий. Переработка микробной биомассы, растительных, микробных и животных белков. Переработка молочной продукции. В производстве мясной и рыбной продукции
Грибные протеазы (протеазы ГК)	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus niger</i>	50–55	4,7–5,3	Для протеолиза белков до низкомолекулярных пептидов и аминокислот	
Трансглутаминаза	<i>Streptomyces mobaraensis</i>	30–60	4,0–7,5	Для изменения структуры и функциональных свойств белков путем образования межмолекулярных связей между белками	
<i>III – биоконверсия полисахаридов (пектиназы, ксиланазы, целлюлазы, β-глюканазы)</i>					
β-Глюканаза, ксиланаза, целлюлаза	<i>Trichoderma viride</i> <i>Trichoderma longibrachiatum</i> и др.	50–65	5,0–7,0	Для гидролиза некрахмальных полисахаридов	В производстве спирта, пива, крахмала, кормов для снижения вязкости и повышения биодоступности субстрата, увеличения выхода готовой продукции
Пектиназа Пектинэстераза Полигалактуроназа	<i>Aspergillus foetidus</i>	40–50	3,5–5,5	Для гидролиза пектиновых веществ плодово-ягодного и растительного сырья	В консервном, соковом, винодельческом и ликеро-водочном производствах для снижения вязкости и повышения биодоступности субстрата, увеличения выхода и качества целевой продукции

воздействия на крахмал. Эти ферменты условно можно разделить на 3 группы: **α -амилазы, глюкоамилазы и пуллулазы** (таблица). Из них α -амилаза и пуллулаза являются ферментами эндодействия, а глюкоамилаза – экзодействия.

Роль амилотических ферментов при гидролизе крахмала исключительно велика. Они атакуют не только клейстеризованный, но и нативный крахмал, разрушая крахмальные зерна [41]. Действуя на целое крахмальное зерно, α -амилаза атакует его, разрыхляя поверхность и образуя каналы и бороздки, т.е. как бы раскалывает зерно на части. Гидролиз крахмала происходит с образованием не окрашиваемых йодом продуктов, состоящих в основном из низкомолекулярных декстринов. α -Амилазы действуют на α -1,4-глюкозидные связи, расщепляя амилозу внутри ее цепи, т.е. являются эндоамилазами. В результате многостадийного гидролиза крахмала образуются α -декстрины, затем тетра- и тримальтоза, гидролиз которых в дальнейшем дает мальтозу и глюкозу.

Глюкоамилаза предназначена для осахаривания частично расщепленных полимеров крахмала с образованием глюкозы. Глюкоамилаза – это фермент с экзогенным механизмом действия на субстрат, катализирует последовательное отщепление концевых остатков глюкозы с нередуцирующего конца субстрата. Глюкоамилаза отличается способностью к более быстрому гидролизу высокомолекулярных декстринов, чем олигосахаридов. Многие глюкоамилазы обладают способностью так же быстро, как и α -1,4-связь, катализировать гидролиз α -1,6-глюкозидных связей. Но это происходит только в том случае, когда за α -1,6-связью следует α -1,4-связь, поэтому, например, декстран не гидролизуется.

Пуллулаза катализирует внутренние α -1,6-связи в амилопектине и предельных декстринах с образованием мальтоолигосахаридов. Как и α -амилаза, пуллулаза является ферментом эндодействия, но в отличие от нее способна неупорядоченно гидролизовать α -1,6-связи в пуллулане, амилопектине, гликогене и предельных декстринах, получаемых при совместном воздействии на крахмал и гликоген α - и β -амилаз. Характерным субстратом для пуллулазы является полисахарид пуллулан, представляющий собой глюкан, в котором молекулы мальтотриозы соединены между собой α -1,6-связями. Пуллулан содержит α -1,4 и α -1,6-глюкановые связи, что до некоторой степени сближает его с крахмалом, делая их общим субстратом такого фермента, как пуллулаза.

Амилопектин и β -предельные декстрины, предварительно обработанные пуллулазой, более глубоко гидролизуются амилотическими ферментами, чем эти же субстраты в нативном состоянии. Так, совместное действие пуллулазы и β -амилазы на амилопектин и гликоген приводит к полному их гидролизу. Атакующая способность амилопектина возрастает и при использовании комплекса ферментов, содержащего пуллулазу, глюкоамилазу и α -амилазу [15]. Синергизм действия этих ферментов позволяет повысить степень и скорость гидролиза крахмала.

Биокаталитическая конверсия белоксодержащего сырья

Для гидролиза белковых веществ применяют ферменты **протеолитического действия**, которые по механизму действия, происхождению и эффективности воздействия на белковые полимеры разделены на 2 основные группы: **пептидазы** КФ 3.4 – 11–15 и **протеиназы** КФ 3.4 – 21–24 [42, 43] (табл. 1).

В 1-й группе протеолитических ферментов подразделение осуществляется на основе механизма расщепления пептидных связей в пептидах. Протеазы, относящиеся к группе пептидаз, в основном являются ферментами экзодействия, катализирующими гидролиз пептидной связи с N- и (или) C-конца пептидной цепи и подразделяются по подклассам:

- α -аминоацилпептидгидролазы (КФ 3.4.11) – аминокислотпептидазы;
- гидролазы пептидиламинокислот или ациламинокислот (КФ 3.4.12) – карбоксипептидазы;
- дипептидгидролазы (КФ 3.4.13) – дипептидазы;
- дипептидилпептидгидролазы (КФ 3.4.14) и пептидилдипептидгидролазы (КФ 3.4.15). Продуктами их гидролиза являются аминокислоты и низкомолекулярные пептиды.

2-я группа протеолитических ферментов – протеиназы – имеет 4 подподкласса, в которых все ферменты подразделяются в зависимости от особенностей механизма катализа, установленного по функционированию активного центра фермента, а также влияния pH на его активность. **Протеиназы** катализируют гидролиз пептидных связей с образованием пептидов с различной молекулярной массой: сериновые (КФ 3.4.21), тиоловые (КФ 3.4.22), карбоксильные (КФ 3.4.23) и металлосодержащие (КФ 3.4.24).

Совместное каталитическое воздействие протеолитических ферментов на белковый субстрат обеспечивает наиболее высокую степень его конверсии до свободных аминокислот и низкомолекулярных пептидов [16, 34, 42–44]. Многие исследователи отмечают, что в гидролизатах образуются биоактивные пептиды, проявляющие иммуномодулирующие и антиоксидантные свойства [45, 46].

В последнее время в пищевой промышленности используют ферментный препарат – источник **трансглутаминазы** (КФ 2.3.2.13) [47, 48]. Фермент впервые был описан в 1959 г. [50]. Трансглутаминаза катализирует образование ковалентных связей между свободными аминокислотными группами (например, связанной с белком или пептидом лизина) и γ -карбоксамидными группами глутамина. При этом формирование связей может происходить как между белками одного происхождения (например, растительного), так и между белками, отличающимися по типу (молочно-растительные), что дает возможность использовать трансглутаминазу в производстве продуктов смешанного состава. Эффективный диапазон действия фермента: от 30 до 60 °C, pH – от 3,0 до 9,0. При температуре свыше 70 °C начинается инактивация фермента.

Биокаталитическая конверсия полисахаридов растительного сырья

К ферментам, катализирующим гидролиз некрахмальных полисахаридов растительного сырья, относятся ферменты **целлюлолитического, гемицеллюлазного и пектолитического действия** (см. таблицу). Эти препараты снижают вязкость зернового суслу, повышают доступность крахмала для действия амилолитических ферментов, что приводит к увеличению концентрации растворимых углеводов и способствует более интенсивному разжижению и улучшению реологических свойств [2, 27, 50]. Ферментные препараты гемицеллюлазного и целлюлолитического действия необходимы при переработке ржаного и ячменного сырья в производстве спирта, пива и кормов. Эти виды сырья характеризуются повышенным содержанием целлюлозы, гемицеллюлозы и гумми-веществ, приводящим к геле- и студнеобразованию, повышению вязкости суслу и ухудшению его реологических показателей.

Практически все гемицеллюлазные ферменты можно разделить на три группы: β -D-глюканазы, β -ксилазы и β -глюкозидазы:

К β -D-глюканазам относят группу ферментов, катализирующую расщепление β -глюканов с β -1,2-, β -1,3-, β -1,4- и β -1,6-связями. В эту группу входят 6 энзимов: целлюлаза, или эндо-1,4- β -глюканаза, эндо-1,3- β -глюканаза, эндо-1,6- β -глюканаза, ламинариназа, лихеназа и эндо-1,2- β -глюканаза.

К β -ксилазам относится система ферментов, катализирующих расщепление β -глюкозидных связей в β -ксиланах.

β -Глюкозидазы (целлобиазы) – ферменты экзогенного действия, катализируют расщепление с нередуцируемого конца β -1,4-связи в β -D-глюкозидах, высвобождая β -D-глюкозу.

При переработке растительного сырья ферменты гемицеллюлазного действия (β -глюканазы и ксиланазы), катализирующие гидролиз полисахаридов с образованием глюкозы и пентоз, выполняют свою определенную функцию, связанную с их специфичностью и механизмом действия [1, 7].

В результате анализа большого массива экспериментальных данных выявлена зависимость реологических и биохимических характеристик зернового суслу и показателей бражки от концентрации гемицеллюлаз. При этом установлено, что использование ферментных препаратов – источников β -глюканаз – в результате ферментативной деполимеризации глюканов зерна позволяет повысить содержание глюкозы в реакционной среде и тем самым способствовать увеличению выхода целевого продукта. Применение ферментных препаратов ксиланолитического действия обеспечивает снижение вязкости суслу и улучшение его реологических показателей, что способствует интенсификации процесса биоконверсии полимеров зернового сырья.

При создании ресурсосберегающих технологий глубокой переработки зернового сырья необходимо учи-

тывать не только содержание крахмала, но и состав белковых веществ и некрахмальных соединений. Для повышения эффективности биоконверсии полимеров зерна применяют специально подобранные целевые мультиэнзимные композиции, в состав которых наряду с традиционно используемыми амилазами включены комплексы протеиназ и пептидаз, β -глюканаз, ксиланаз, ферментов целлюлолитического действия. Синергизм действия ферментов с различной субстратной специфичностью способствует улучшению реологических показателей зернового суслу, повышению бродильной активности дрожжей, ускорению процессов генерации дрожжей и спиртового брожения, повышению выхода целевого продукта [11, 16, 23, 51].

При переработке плодово-ягодного сырья в сокоморской и винодельческой промышленности наиболее широко используют ферменты пектолитического действия, включающие полигалактуроназу, пектинэстеразу и др. [4, 7, 12, 18]. В работах ряда исследователей приводятся данные об эффективности комплексного воздействия пектолитических ферментов с ферментами, катализирующими гидролиз белков и полисахаридов [20, 24, 25]. В результате ферментативной деструкции полимеров плодово-ягодного сырья увеличивается выход соков, повышается их качество и стабильность при хранении.

Эффективность применения ферментных препаратов в производстве пищевых продуктов и биологически активных добавок

Современная концепция здорового питания предполагает повышение пищевой ценности пищевых продуктов путем введения в их состав источников биологически активных веществ [52–55]. Важной составляющей в сбалансированном питании являются белковые вещества (полипептиды, низкомолекулярные пептиды и аминокислоты).

Перспективным источником белка, аминокислотный скор которого приближается к животному (за исключением серосодержащих аминокислот), являются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. В работах многих исследователей показано, что белок дрожжей, состоящий из 466 аминокислотных остатков, характеризуется хорошей сбалансированностью незаменимых аминокислот, при добавлении метионина и цистеина он не уступает белкам мяса [51, 55]. Дрожжи богаты также витаминами, особенно группы В, и минеральными веществами [56]. Кроме того, клеточные стенки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* содержат полисахариды глюкано-маннановой природы, обладающие высокой сорбционной способностью, на основе которых возможно создание препаратов для регуляции деятельности желудочно-кишечного тракта [57]. Однако пищевая ценность микробной биомассы ограничена малой доступностью содержимого клетки для действия пищеварительных ферментов. Для повышения усвояемости внутриклеточных биологически ценных компонентов разрабатываются различные

способы обработки дрожжей, из них наиболее перспективным является процесс ферментативной деструкции полимеров микробной клетки с целью выделения белковых веществ и получения белково-аминокислотных обогатителей пищи.

Для получения продуктов заданного структурно-фракционного состава на основе дрожжевой биомассы разработана комплексная ферментативная система, обеспечивающая проведение направленной биокаталитической деструкции субклеточных структур дрожжевой клетки *Saccharomyces cerevisiae* [51, 58]. В состав ферментативной системы входят ферменты, катализирующие гидролиз полисахаридов клеточных стенок дрожжей (β -глюканаза, маннаназа, протеиназа и хитиназа), и комплекс ферментов протеолитического действия грибного происхождения, содержащий протеиназы и пептидазы, для глубокого гидролиза белковых веществ протоплазмы дрожжевой клетки. В зависимости от степени деструкции суб-

клеточных структур показана возможность получения ферментолитатов биомассы дрожжей с заданным фракционным составом белковых веществ для производства пищевых ингредиентов и продуктов [51, 59, 60].

Таким образом, биотехнология является одним из наиболее перспективных направлений науки, обеспечивающим развитие перерабатывающих отраслей агропромышленного комплекса, ориентированных на производство пищевой продукции и экологию. Проблема полноценного обеспечения пищевых потребностей населения может быть решена с привлечением ценных ингредиентов, получаемых на основе ферментативной конверсии растительного, животного и микробного сырья.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 16-16-00104).

Сведения об авторах

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва):

Римарева Любовь Вячеславовна – академик РАН, доктор технических наук, профессор, главный научный сотрудник

E-mail: lrimareva@mail.ru

Серба Елена Михайловна – доктор биологических наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе

E-mail: serbae@mail.ru

Соколова Елена Николаевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

E-mail: elenaniksokolova@inbox.ru

Борщева Юлия Александровна – кандидат технических наук, научный сотрудник

E-mail: juliaborshova@mail.ru

Игнатова Надежда Иосифовна – старший научный сотрудник

E-mail: ignatova59@mail.ru

Литература

1. Поляков В.А., Римарева Л.В. Теоретические и практические аспекты развития спиртовой, ликероводочной, ферментной, дрожжевой и уксусной отраслей промышленности спиртовой, ликероводочной, ферментной, дрожжевой и уксусной отраслей промышленности : сборник научных трудов. М. : ВНИИПБТ, 2011. 298 с.
2. Поляков В.А., Римарева Л.В. Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов : Сборник научных трудов / под ред. В.А. Полякова, Л.В. Римаревой. М. : ВНИИПБТ, 2012. 432 с.
3. Жеребцов Н.А., Корнеева О.С., Фараджева Е.Д. Ферменты и их роль в технологии пищевых продуктов. Воронеж : Изд-во ВГУ, 1999. 117 с.
4. Кислухина О.В. Ферменты в производстве пищи и кормов. М. : ДеЛи принт, 2002. 336 с.
5. Серба Е.М., Римарева Л.В., Погоржельская Н.С., Мочалина П.Ю. Ферментативный комплекс для биокаталитической деструкции полимеров микробного и растительного сырья // Acta Naturae. 2016. № S-2. С. 236–237.
6. Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. Enzyme Nomenclature 1992 // Recommendation of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on Nomenclature and classification of enzymes. San Diego : Academic Press, 1992. 372 p.
7. Грачева И.М., Кривова А.Ю. Технология ферментных препаратов. М. : Элевар, 2000. 512 с.
8. Варфоломеев С.Д., Пожитков А.Е. Активные центры гидролаз: основные типы структур и механизм катализа // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2000. Т. 41, № 3. С. 147–156.
9. Лысенко Л.А., Немова Н.Н., Канцерова Н.П. Протеолитическая регуляция биологических процессов. Петрозаводск : Карельский научный центр РАН, 2011. 482 с.
10. Комов В.П., Шведова В.Н. Биохимия : учебное пособие. М. : Дрофа, 2004. 638 с.
11. Серба Е. М., Оверченко М. Б., Римарева Л.В., Погоржельская Н.С., Давыдкина В.Е., Поляков В.А. Скрининг активных популяций гриба *Aspergillus oryzae* по способности к синтезу промышленно значимых метаболитов // Микология и фитопатология. 2017. № 1. С. 47–53.
12. Курбатова Е.И., Соколова Е.Н., Борщева Ю.А., Давыдкина В.Е., Римарева Л.В., Поляков В.А. и др. Микромикет *Aspergillus foetidus* – продуцент комплекса гидролитических ферментов // Микология и фитопатология. 2017. № 1. С. 34–40.
13. Polizeli M.L., Rizzatti A.C.S, Monti R., Terenzy H.F., Jorge J.A., Amorim D.S. Xylanases from fungi: properties and industrial applications // Microbiol. Biotechnol. 2005. Vol. 67. P. 577–591.
14. Rozhkova A.M., Semenova M.V., Rubtsova E.A., Sereda A.S., Tsurikova N.V., Rimareva L.V. et al. Creation of a heterologous gene

- expression system on the basis of *Aspergillus awamori* recombinant strain // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2011. Vol. 47, N 3. P. 279–287.
15. Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Трифонова В.В., Игнатова Н.И. Амиллитический комплекс для интенсификации осахаривания и сбраживания крахмалсодержащего сырья // *Производство спирта и ликероводочных изделий.* 2002. № 1. С. 32–33.
 16. Римарева Л.В., Оверченко М.Б. Использование протеолитического ферментного препарата из *Aspergillus oryzae* в спиртовом брожении // *Производство спирта и ликероводочных изделий.* 2005. № 4. С. 12–14.
 17. Кнопина С.И., Савенкова Т.В. Технологические аспекты применения комплексного ферментного препарата в производстве крекера // *Микробные биокатализаторы для перерабатывающих отраслей АПК : сборник / под ред. В.А. Полякова, Л.В. Римаревой. М. : ВНИИПБТ, 2006. С. 77–81.*
 18. Козлова Н.А., Гореньков Э.С., Киселева Л.В. Разработка технологии и оборудования для непрерывной ферментной обработки плодовых сокоматериалов // *Микробные биокатализаторы для перерабатывающих отраслей АПК : сборник / под ред. В.А. Полякова, Л.В. Римаревой. М. : ВНИИПБТ, 2006. С. 242–245.*
 19. Агаркова Е.Ю., Березкина К.А., Кручинин А.Г., Николаев И.В. Проектирование протеолиза молочных белков для создания функциональных продуктов со сниженной аллергенностью // *Материалы Международной научной конференции «Пищевые инновации и биотехнологии». Кемерово : ФГБОУ ВПО «КемТИПП», 2014. С. 21–23.*
 20. Курбатова Е. И., Римарева Л.В., Трифонова В.В., Воробьева Е.В. Исследование оптимальных условий ферментативной обработки яблочной мякоти при производстве полуфабрикатов ликероводочных изделий // *Производство спирта и ликероводочных изделий.* 2005. № 4. С. 25–30.
 21. Матвеева И.В., Белявская И.Г. Биотехнологические основы приготовления хлеба. М. : Делли принт, 2001. 150 с.
 22. Поландова Р.Д. Современные технологические решения использования ферментных препаратов в хлебопечении России // *Микробные биокатализаторы и перспективы развития ферментных технологий в перерабатывающих отраслях АПК : сборник / под ред. В.А. Полякова, Л.В. Римаревой. М. : Пищепромиздат, 2004. С. 308–311.*
 23. Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Серба Е.М., Игнатова Н.И. Влияние ферментативных систем на биохимический состав зернового суслу и культуральные свойства осмофильной расы спиртовых дрожжей // *Производство спирта и ликероводочных изделий.* 2013. № 1. С. 18–20.
 24. Римарева Л.В., Курбатова Е.И. Патент на изобретение № 2305463 «Мультиэнзимная композиция для получения осветленного яблочного сока и способ получения осветленного яблочного сока». 2006.
 25. Соколова Е.Н., Курбатова Е.И., Римарева Л.В., Давыдкина В.Е., Борщева Ю.А. Биотехнологические аспекты направленной ферментативной деструкции клеточных стенок растительного сырья для получения экстрактов с повышенным содержанием биологически ценных веществ в качестве компонентов функциональных напитков // *Вопр. питания.* 2016. Т. 85, № 2. С. 151–152.
 26. Григорьев М.А., Серба Е.М., Оверченко М.Б. Исследование процесса ферментации зерновой композиции для конструирования продуктов питания // *Хранение и переработка сельхозсырья.* 2009. № 2. С. 61–63.
 27. Римарева Л.В. Совершенствование биотехнологических процессов в спиртовом производстве с использованием ферментативного катализа // *Микробные биокатализаторы и перспективы развития ферментных технологий в перерабатывающих отраслях АПК : сборник / под ред. В.А. Полякова, Л.В. Римаревой. М. : Пищепромиздат, 2004. С. 195–208.*
 28. Семенова М.В., Зоров И.Н., Синецын А.П., Окунев О.Н., Барышников Л.М., Цурикова Н.В. Состав и свойства ферментного комплекса, секретируемого высокопродуктивными мутантными штаммами *Aspergillus awamori*, используемыми в спиртовой промышленности // *Микробные биокатализаторы для перерабатывающих отраслей АПК : сборник. М. : ВНИИПБТ, 2006. С. 77–81.*
 29. Шурхно Р.А., Агзамов Р.З. Основы биоконверсии растительного сырья : учебно-методическое пособие. Казань : Изд-во КНИТУ, 2014. 100 с.
 30. Norouzi D., Akbarzadeh A., Schärer J.M., Young M.M. Fungal glucoamylases // *Biotech. Adv.* 2006. Vol. 24. P. 80–85.
 31. Харитонов В.Д., Будрик В.Г., Агаркова Е.Ю., Кручинин А.Г., Березкина К.А., Попов В.О. и др. Рациональный дизайн биокаталитической конверсии молочных белков для создания продуктов со сниженной аллергенностью // *Материалы Международной научно-практической конференции «Биотехнология и качество жизни». М., 2014. С. 334–335.*
 32. Серба Е.М., Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Курбатова Е.И., Рачков К.В., Игнатова Н.И. и др. Получение ферментолитатов мицелиальной биомассы для создания пищевых и кормовых добавок // *Пищ. пром-сть.* 2016. № 6. С. 20–24.
 33. Серба Е.М., Оверченко М.Б., Давыдкина В.Е., Шелехова Н.В., Римарева Л.В., Поляков В.А. Научно-практические аспекты получения БАД на основе конверсии вторичных биоресурсов // *Хранение и переработка сельхозсырья.* 2015. № 2. С. 44–50.
 34. Серба Е.М., Оверченко М.Б., Погорельская Н.С., Курбатова Е.И., Поляков В.А., Римарева Л.В. Зависимость степени деструкции белковых веществ микробной биомассы от состава протеолитического комплекса // *Вестн. Рос. сельскохозяйственной науки.* 2015. № 2. С. 48–51.
 35. Поляков В.А., Римарева Л.В., Курбатова Е. И., Соколова Е.Н., Борщева Ю.А., Тесля А.В. Получение белковых обогатителей пищи на основе ферментативной деструкции белково-полисахаридного комплекса клеточных стенок дрожжей // *Пищ. пром-сть.* 2012. № 11. С. 42–44.
 36. Чурсин В.И. Биокатализ в процессах обработки кожевенного сырья и коллагенсодержащих материалов // *Микробные биокатализаторы и перспективы развития ферментных технологий в перерабатывающих отраслях АПК : сборник. М. : Пищепромиздат, 2004. С. 137–144.*
 37. Шестаков И.С., Моисеева Л.В., Миронова Т.Ф. Ферменты в кожевенном и меховом производстве. М. : Легпромбытиздат, 1990. 128 с.
 38. Guo Z., Xu X. New opportunity for enzymatic modification of fats and oils with industrial potentials // *Org. Biomol. Chem.* 2005. Vol. 3, N 14. P. 2615–2619.
 39. Gupta R., Gupta N., Rathi P. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2005. Vol. 64, N 6. P. 763–781.
 40. Schrag, J. D., and M. Cygler. Lipases and alpha-beta hydrolase fold // *Methods Enzymol.* 1997. Vol. 284. P. 85–107.
 41. Лукин Н.Д., Бородин З.М., Папахин А.А., Шаталова О.В., Кривандин А.В. Исследование действия амиллитических ферментов на нативный крахмал различных видов в гетерогенной среде // *Достижения науки и техники АПК.* 2013. № 10. С. 62–64.
 42. Римарева Л.В., Оверченко М. Б., Серба Е.М., Трифонова В.В. Сравнительная характеристика микробных протеаз по степени гидролиза белковых субстратов // *Приклад. биохим.* 1997. Т. 33, № 1. С. 43–48.
 43. Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Соколова Е.Н., Серба Е.М., Игнатова Н.И., Медриш М.Э. и др. Ферменты протеолитического действия и их биокаталитические особенности при конверсии зернового сырья // *Вестн. Рос. сельскохозяйственной науки.* 2016. № 6. С. 62–64.
 44. Аксенова Л.М., Римарева Л.В. Направленная конверсия белковых модулей пищевых продуктов животного и растительного происхождения // *Вестн. РАН.* 2017. Т. 87, № 4. С. 355–357.
 45. Jorgensen A.L.W., Juul-Madsen H.R., Stagsted J. Colostrum and bioactive colostrum peptides differentially modulate the innate immune response of intestinal epithelial cells // *J. Pept. Sci.* 2010. Vol. 16. P. 21–30.
 46. Sarmadi B.H., Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: a review // *Peptides.* 2010. Vol. 31. P. 1949–1956.

47. Зобкова З.С., Фурсова Т.П., Зенина Д.В., Римарева Л.В., Серба Е.М., Курбатова Е.И. и др. Влияние способа внесения транслгутаминазы на структурно-механические свойства йогурта и протеолитическую активность заквасочных культур // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2014. № 3. С. 28–32.
48. Зобкова З.С., Фурсова Т.П., Зенина Д.В., Гаврилина А.Д., Шелагинова И.Р., Шефов Д.А. и др. Исследование влияния условий применения препаратов транслгутаминазы на качество сметаны // *Переработка молока*. 2015. № 5. С. 38–42.
49. Clarke D.D., Musek M.J., Neidle A., Waelsch H. The incorporation of amines into proteins // *Arch. Biochem. Biophys.* 1959. Vol. 79. P. 338–354.
50. Середа А.С., Игнатова Н.И., Оверченко М.Б., Цурикова Н.В., Римарева Л.В., Рожкова А.М. и др. Исследование гидролитической способности комплексных ферментных препаратов, полученных на основе высокоэффективных рекомбинантных штаммов *Aspergillus awamori*, по отношению к полисахаридам зернового сырья // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2011. № 3. С. 54–56.
51. Серба Е.М., Поляков В.А. Биотехнологические основы комплексной переработки зернового сырья и вторичных биоресурсов в этанол и белково-аминокислотные добавки. М. : ВНИИПБТ. 2015. 133 с.
52. Спиричев В.Б. Научные принципы обогащения пищевых продуктов микронутриентами // *Вопр. питания*. 2000. № 4. С. 13–19.
53. Тутельян В.А. Биологически активные добавки к пище как неотъемлемый элемент здорового оптимального питания // *Сборник научных трудов*. 2002. № 1. С. 4–9.
54. Лавинский Х.Х., Дорошевич В.И., Бацукова Н.Л., Замбрицкий О.Н. Научные основы коррекции статуса питания // *Изв. Нац. акад. наук Беларуси. Серия медицинских наук*. 2006. № 2. С. 47–55.
55. Римарева Л.В. Теоретические и практические основы биотехнологии дрожжей : Учебное пособие. М. : ДеЛи принт, 2010. 256 с.
56. Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И., Шелехова Н.В., Серба Е.М., Кривова А.Ю. Исследование внутриклеточного ионного состава биомассы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // *Рос. сельскохозяйственная наука*. 2017. № 1. С. 51–54.
57. Kurbatova E.I., Serba E.M., Rimareva L.V., Borshcheva Y.A., Sokolova E.N., Fursova N.A. et al. Enhancement of the adsorptive and antimicrobial properties of the yeast cell walls by enzymatic processing // *RJPBCS (Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences)*. 2017. Vol. 8, N 3. P. 2133–2138.
58. Серба Е.М., Оверченко М.Б., Давыдкина В.Е., Шелехова Н.В., Римарева Л.В., Поляков В.А. Научно-практические аспекты получения БАД на основе конверсии вторичных биоресурсов // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2015. № 2. С. 44–50.
59. Серба Е.М., Римарева Л.В., Курбатова Е.И., Волкова Г.С., Поляков В.А., Варламов В.П. Исследование процесса ферментативного гидролиза биомассы дрожжей для создания пищевых ингредиентов с заданным фракционным составом // *Вопр. питания*. 2017. № 2. С. 76–84.
60. Поляков В.А., Римарева Л.В., Серба Е.М., Погорельская Н.С., Рачков К.В. Биологически активные добавки микробного происхождения как фактор, формирующий функциональные свойства пищевых продуктов // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2013. № 12. С. 43–47.

References

1. Polyakov V. A., Rimareva L.V. Theoretical and practical aspects of development of alcohol, liquor, enzyme, yeast and vinegar industries. Collection of Scientific Papers. Moscow: VNIIPBT, 2011: 298 p. (in Russian).
2. Polyakov V. A., Rimareva L.V. Promising enzyme preparations and biotechnological processes in food and feed technologies. Collection of Scientific Papers In: V.A. Polyakov, L.V. Rimareva (eds). Moscow: VNIIPBT, 2012: 432 p. (in Russian).
3. Zherebtsov N.A., Korneeva O. S., Faradzheva E.D. Enzymes and their role in food technology. Voronezh: Izdatel'stvo VGU, 1999: 117 p. (in Russian).
4. Kislukhina O.V. Enzymes in the production of food and feed. Moscow: DeLi print, 2002: 336 p. 20. (in Russian).
5. Serba E.M., Rimareva L.V., Pogorzhel'skaya N.S., Mochalina P.Yu. Enzymatic complex for biocatalytic destruction of polymers of microbial and plant raw materials. *Acta Naturae*. 2016; (S-2): 236–7. (in Russian).
6. Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. Enzyme Nomenclature 1992. In: Recommendation of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on Nomenclature and classification of enzymes. San Diego: Academic Press, 1992: 372 p.
7. Gracheva I.M., Krivova A.Yu. Technology of enzyme preparations. Moscow: Elevar, 2000: 512 p. (in Russian).
8. Varfolomeev S.D., Pozhitkov A.E. Active centers of hydrolases: the main types of structures and the mechanism of catalysis. *Vestnik Moskovskogo universiteta [Bulletin of Moscow University]*. Part 2. Chemistry 2000. Vol. 41 (3): 147–156. (in Russian).
9. Lysenko L.A., Nemova N.N., Kancerova N.P. Proteolytic regulation of biological processes. Petrozavodsk: Karel'skiy nauchniy tsentr RAN, 2011: 482 p. (in Russian).
10. Komov V. P., Shvedova V.N. Biochemistry. Tutorial. Moscow: Drofa, 2004: 638 p. (in Russian).
11. Serba E. M., Overchenko M. B., Rimareva L.V., Pogorzhel'skaya N.S., Davydкина V.E., Polyakov V.A. Screening of active populations of *Aspergillus oryzae* by the ability to synthesize industrially important metabolites. *Mikologiya i fitopatologiya [Mycology and Phytopathology]*, 2017; (1): 47–53. (in Russian).
12. Kurbatova E.I., Sokolova E.N., Borshcheva Yu.A, Davydкина V.E., Rimareva L.V., Polyakov V.A., Pogorzhel'skaya N.S. Micromycete *Aspergillus foetidus* – producer of complex hydrolytic enzymes. *Mikologiya i fitopatologiya [Mycology and Phytopathology]*. 2017; (1): 34–40. (in Russian).
13. Polizeli M.L., Rizzatti A.C.S, Monti R., Terenzy H.F., Jorge J.A., Amorim D.S. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. *Microbiol Biotechnol*. 2005; 67: 577–91.
14. Rozhkova A.M., Semenova M.V., Rubtsova E.A., Sereda A.S., Tsurikova N.V., Rimareva L.V., et al. Creation of a heterologous gene expression system on the basis of *Aspergillus awamori* recombinant strain. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya [Applied Biochemistry and Microbiology]*. 2011; 47 (3): 279–87. (in Russian).
15. Rimareva L.V., Overchenko M.B., Trifonova V.V., Ignatova N.I. Amyolytic complex for intensification of saccharification and fermentation of starch-containing raw materials. *Proizvodstvo spirita i likerovodochnykh izdeliy [Manufacture of Alcohol Liqueur and Vodka Products]*. 2002; (1): 32–3. (in Russian).
16. Rimareva L.V., Overchenko M.B. Use of proteolytic enzyme preparation from *Aspergillus oryzae* in alcohol fermentation. *Proizvodstvo spirita i likerovodochnykh izdeliy [Manufacture of Alcohol Liqueur and Vodka Products]*. 2005; (4): 12–4. (in Russian).
17. Knopova S.I., Savenkova T.V. Technological aspects the use a complex enzyme preparation in the production of cracker. In: V.A. Polyakov, L.V. Rimareva (eds). *Microbial Biocatalysts for Processing Branches of Agroindustrial Complex*. Collection. Moscow: VNIIPBT, 2006: 77–81. (in Russian).
18. Kozlova N.A., Goren'kov E.H.S., Kiseleva L.V. Development of technology and equipment for continuous enzymatic treatment of fruit juice materials. In: V.A. Polyakov, L.V. Rimareva (eds). *Microbial Biocatalysts for Processing Branches of Agroindustrial Complex*. Collection. Moscow: VNIIPBT, 2006: 242–5. (in Russian).
19. Agarkova E.Yu., Berezkina K.A., Kruchinin A.G., Nikolaev I.V. Design of the proteolysis of milk proteins for the creation of functional products with reduced allergenicity. In: *Materials of the International Scientific Conference «Food Innovations and Biotechnologies»*. Kemerovo: FGBOU VPO «KemTIPP», 2014: 21–3. (in Russian).

20. Kurbatova E. I., Rimareva L.V., Trifonova V.V., Vorob'eva E.V. Investigation of optimum conditions enzymatic processing of apple pulp in the production of half-stuff alcohol liqueur products. *Proizvodstvo spirta i likerovodochnykh izdeliy* [Manufacture of Alcohol Liqueur and Vodka Products]. 2005; (4): 25–30. (in Russian).
21. Matveeva I.V., Belyavskaya I.G. Biotechnological bases of breadmaking. Moscow: DeLi print, 2001: 150 p. (in Russian).
22. Polandova R.D. Modern technological solutions the use of enzyme preparations in breadmaking of Russia. In: V.A. Polyakov, L.V. Rimareva (eds). *Microbial Biocatalysts and Prospects Development of Enzyme Technologies in the Processing Branches of Agroindustrial Complex*. Collection Moscow: Pishchepromizdat, 2004: 308–11. (in Russian).
23. Rimareva L.V., Overchenko M.B., Serba E.M., Ignatova N.I. The influence of enzyme systems on biochemical composition of grain wort and cultural properties osmophilic race of alcohol yeast. *Proizvodstvo spirta i likerovodochnykh izdeliy* [Manufacture of Alcohol Liqueur and Vodka Products]. 2013; (1): 18–20. (in Russian).
24. Rimareva L.V., Kurbatova E.I. Patent N 2305463 «Multienzyme composition for the preparation of clarified apple juice and a method of obtaining clarified apple juice», 2006. (in Russian).
25. Sokolova E.N., Kurbatova E.I., Rimareva L.V., Davydkina V.E., Borshcheva Yu.A. Biotechnological aspects directed enzymatic degradation of cell walls in plant raw material to obtain extracts with a high content of biologically valuable substances as components of functional beverages. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2016; 85 (2): 151–2. (in Russian).
26. Grigor'ev M.A., Serba E.M., Overchenko M.B. Investigation the process fermentation of grain composition for the design of food products. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyra* [Storage and Processing of Agricultural Raw Materials]. 2009; (2): 61–3. (in Russian)
27. Rimareva L.V. Improvement of biotechnological processes in alcohol production using enzymatic catalysis. In: V.A. Polyakov, L.V. Rimareva (eds). *Microbial Biocatalysts and Prospects Development of Enzyme Technologies in the Processing Branches of Agroindustrial Complex*. Collection Moscow: Pishchepromizdat, 2004: 195–208. (in Russian).
28. Semenova M.V., Zorov I.N., Sinicyn A.P., Okunев O.N., Baryshnikova L.M., Curikova N.V. Composition and properties of the enzyme complex produced by highly productive mutant strains of *Aspergillus awamori* used in the alcohol industry. In: *Microbial Biocatalysts for Processing Branches of Agroindustrial Complex*. Collection. Moscow: VNIIPBT, 2006: 77–81. (in Russian).
29. Shurhno R.A., Agzamov R.Z. The basics of bioconversion of plant raw materials. In: *Educational-Methodical Manual*. Kazan': Izdatel'stvo KNITU, 2014: 100 p. (in Russian).
30. Norouzian D., Akbarzadeh A., Scharer J.M., Young M.M. Fungal glucoamylases. *Biotech Adv.* 2006; 24: 80–5.
31. Haritonov V.D., Budrik V.G., Agarkova E.Yu., Kruchinin A.G., Berezkina K.A., Popov V.O., et al. Rational design of biocatalytic conversion of milk proteins to create products with reduced allergenicity. In: *Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Biotekhnologiya i kachestvo zhizni»* [Materials of International Scientific-Practical Conference «Biotechnology and Quality of Life »]. Moscow, 2014: 334–5. (in Russian).
32. Serba E.M., Rimareva L.V., Overchenko M.B., Kurbatova E.I., Rachkov K.V., Ignatova N.I., et al. Preparation of micellial biomass fermentolysates for food and feed additives. *Pishevaya promyshlennost'* [Food Industry]. 2016; (6): 20–4. (in Russian).
33. Serba E.M., Overchenko M.B., Davydkina V.E., Shelekhova N.V., Rimareva L.V., Polyakov V.A. Scientific-practical aspects of obtaining biologically active additives by conversion of bio-resources secondary. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyra* [Storage and Processing of Agricultural Raw Materials]. 2015; (2): 44–50. (in Russian).
34. Serba E.M., Overchenko M.B., Pogorzhel'skaya N.S., Kurbatova E.I., Polyakov V.A., Rimareva L.V. The dependence of the degree of decomposition of protein substances of microbial biomass from the composition of the proteolytic complex. *Vestnik Rossiyskoy sel'skokhozyaystvennoy nauki* [Bulletin of the Russian Agricultural Science]. 2015; (2): 48–51. (in Russian).
35. Polyakov V.A., Rimareva L.V., Kurbatova E. I., Sokolova E.N., Borshcheva YU.A., Teslya A.V. Obtaining protein of nutritious food based on enzymatic degradation of the protein-polysaccharide complex of the cell walls of yeast. *Pishcheyaya promyshlennost'* [Food Industry]. 2012; (11): 42–4. (in Russian).
36. Chursin V.I. Biocatalysis in processing of raw hides and collagen-containing materials. In: *Microbial biocatalysts and prospects of development of enzyme technology in the processing industries of the agroindustrial complex*. Moscow: Pichpromizdat, 2004: 137–44. (in Russian).
37. Shestakov I.S., Moiseeva L.V. Mironova T.F. Enzymes in the leather and fur production. Moscow: Legbitpromizdat, 1990: 128 p. (in Russian).
38. Guo Z., Xu X. New opportunity for enzymatic modification of fats and oils with industrial potentials. *Org Biomol Chem.* 2005; 3 (14): 2615–9.
39. Gupta R., Gupta N., Rathi P. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2005; 64 (6): 763–81.
40. Schrag, J. D., and M. Cygler. Lipases and alpha-beta hydrolase fold. *Methods Enzymol.* 1997; 284: 85–107.
41. Lukin N.D., Borodina Z.M., Papahin A.A., Shatalova O.V., Krivandin A.V. The study of the action of amyolytic enzymes on native starches of various types in a heterogeneous environment. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK* [The Achievements of Science and Technology of Agroindustrial Complex]. 2013; (10): 62–4. (in Russian).
42. Rimareva L.V., Overchenko M. B., Serba E.M., Trifonova V.V. Comparative characteristics of microbial protease on degree of hydrolysis of protein substrates. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied Biochemistry and Microbiology]. 1997; 33 (1): 43–8. (in Russian).
43. Rimareva L.V., Overchenko M.B., Sokolova E.N., Serba E.M., Ignatova N.I., Medrish M.E., et al. The proteolytic enzymes of the biocatalytic features in the conversion of raw grain. *Vestnik Rossiyskoy sel'skokhozyaystvennoy nauki* [Bulletin of the Russian Agricultural Science]. 2016; (6): 62–4. (in Russian).
44. Aksenova L.M., Rimareva L.V. Directed the conversion of protein modules in food products of animal and vegetable origin. *Vestnik Rossiiskoi akademii nauk* [Bulletin of the Russian Academy of Sciences]. 2017; 87 (4): 355–7. (in Russian).
45. Jorgensen A.L.W., Juul-Madsen H. R., Stagsted J. Colostrum and bioactive colostral peptides differentially modulate the innate immune response of intestinal epithelial cells. *J Pept Sci.* 2010; 16: 21–30.
46. Sarmadi B.H., Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: a review. *Peptides.* 2010; 31: 1949–56.
47. Zobkova Z.S., Fursova T.P., Zenina D.V., Rimareva L.V., Serba E.M., Kurbatova E.I., et al. The influence of the method of making transglutaminase on the structural and mechanical properties of yogurt and proteolytic activity of starter cultures. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyra* [Storage and Processing of Agricultural Raw Materials]. 2014; (3): 28–32. (in Russian).
48. Zobkova Z.S., Fursova T.P., Zenina D.V., Gavrilina A.D., Shelagino I.R., Shefov D.A., et al. A study of the influence of the conditions of use of drugs transglutaminase on the quality of sour cream. *Pererabotka moloka* [Processing of Milk]. 2015; (5): 38–42. (in Russian).
49. Clarke D.D., Mycek M.J., Neidle A., Waelsch H. The incorporation of amines into proteins. *Arch. Biochem. Biophys.* 1959; 79: 338–54.
50. Sereda A.S., Ignatova N.I., Overchenko M.B., Curikova N.V., Rimareva L.V., Rozhkova A.M., et al. Study of the hydrolytic ability of the complex enzyme preparations obtained on the basis of highly efficient recombinant strains of *Aspergillus awamori*, in relation to the polysaccharides of raw grain. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyra* [Storage and Processing of Agricultural Raw Materials]. 2011; (3): 54–6. (in Russian).
51. Serba E.M., Polyakov V.A. Biotechnological bases of complex processing of grain raw materials and secondary resources in the ethanol and protein and amino acid supplements. Moscow: VNIIPBT. 2015: 133 p. (in Russian).

52. Spirichev V.B. Scientific principles of food fortification with micro-nutrients. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2000; (4): 13–9. (in Russian).
53. Tuteliyan V.A. Biologically active food Supplement, as an integral element of a healthy optimal nutrition. *Sbornik nauchnykh trudov* [Collection of Scientific Papers]. 2002; (1): 4–9. (in Russian).
54. Lavinskij H.H., Doroshevich V.I., Bacukova N.L., Zambrzhickij O.N. Scientific bases of correction of nutritional status. *Izvestiya Natsional'noy akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Series of medical Sciences]. 2006; (2): 47–55. (in Russian).
55. Rimareva L.V. Theoretical and practical fundamentals of biotechnology of yeast. Textbook. Moscow, DeLi print, 2010: 256 p. (in Russian).
56. Rimareva L.V., Overchenko M.B., Ignatova N.I., Shelekhova N.V., Serba E.M., Krivova A.Yu. The study of intracellular ion composition of yeast biomass of *Saccharomyces cerevisiae*. *Rossiyskaya sel'skokhozyaystvennaya nauka* [Russian Agricultural Science]. 2017; 1: 51–54. (in Russian).
57. Kurbatova E.I., Serba E.M., Rimareva L.V., Borshcheva Y.A., Sokolova E.N., Fursova N.A., et al. Enhancement of the adsorptive and antimicrobial properties of the yeast cell walls by enzymatic processing. *RJPBCS* (Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences). 2017; 8 (3): 2133–8.
58. Serba E.M., Overchenko M.B., Davydkina V.E., Shelekhova N.V., Rimareva L.V., Polyakov V.A. Scientific-practical aspects of obtaining BAD based on the conversion of secondary bioresources. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyra* [Storage and Processing of Agricultural Raw Materials]. 2015; (2): 44–50. (in Russian).
59. Serba E.M., Rimareva L.V., Kurbatova E.I., Volkova G.S., Polyakov V.A., Varlamov V.P. The study of the process of enzymatic hydrolysis of yeast biomass to generate food ingredients with the specified fractional composition. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2017; (2): 76–84. (in Russian).
60. Polyakov V.A., Rimareva L.V., Serba E.M., Pogorzhel'skaya N.S., Rachkov K.V. Biologically active additives of microbial origin as a factor shaping the functional properties of foods. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyra* [Storage and Processing of Agricultural Raw Materials]. 2013; 12: 43–7. (in Russian).

Для корреспонденции

Лукина Светлана Ивановна – кандидат технических наук, доцент кафедры технологии хлебопекарного, кондитерского, макаронного и зерноперерабатывающего производств ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Адрес: 394036, г. Воронеж, пр. Революции, д. 19

Телефон: (8473) 255-38-51

E-mail: lukina.si@yandex.ru

Пономарева Е.И.¹, Попов В.И.², Есауленко И.Э.², Лукина С.И.¹, Алехина Н.Н.¹

Пряничные изделия повышенной пищевой ценности с нетрадиционными видами сырья

Gingerbreads of enhanced nutritional value with the non-traditional raw materials

Ponomareva E.I.¹, Popov V.I.², Esaulenko I.E.², Lukina S.I.¹, Alekhina N.N.¹

¹ ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

² ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России

¹ Voronezh State University of Engineering Technologies

² Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko

Приведены результаты исследований показателей качества и пищевой ценности пряничных изделий с нетрадиционными видами сырья. В работе предусматривали применение муки из цельносмолотых семян нута, муки из цельносмолотого зерна пшеницы, муки из отрубей гречишных и масла горчичного. Нетрадиционные виды муки вносили в виде мучной композитной смеси взамен муки пшеничной (50%) по рецептуре пряников глазированных, масло горчичное – 8% к общей массе муки. Показано, что применение нетрадиционных видов сырья позволяет улучшить органолептические и физико-химические показатели, увеличить антиоксидантную активность, повысить пищевую ценность пряничных изделий, вырабатываемых по ГОСТ 15810-2014. Установлено, что потребление 100 г обогащенных пряничных изделий обеспечивает удовлетворение суточной потребности в белке на 10%, жире – на 2–6%, углеводах – на 19%, пищевых волокнах – на 14%, кальции, калии и селене – на 5–8%, в магнии, фосфоре и железе – на 15–30%, витаминах В₁, В₂ и РР – на 8–11%, витамине Е – на 3–18%, незаменимых аминокислотах – на 9–20%.

Ключевые слова: нетрадиционные виды сырья, пряничные изделия, показатели качества, пищевая ценность

The results of the research on quality indicators and nutritional value of gingerbreads made from non-traditional raw materials are presented. The flour from whole-hulled chickpea seeds, whole-wheat flour, flour from the buckwheat bran and mustard oil has been used. Non-traditional types of flour were added in the form of flour composite mixture instead of wheat flour (50%) according to the recipe of glazed gingerbread, mustard oil – 8% to the total weight flour. It has been shown that the usage of unconventional materials

Для цитирования: Пономарева Е.И., Попов В.И., Есауленко И.Э., Лукина С.И., Алехина Н.Н. Пряничные изделия повышенной пищевой ценности с нетрадиционными видами сырья // *Вопр. питания*. 2017. Т. 86. № 5. С. 75–81.

Статья поступила в редакцию 04.07.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Ponomareva E.I., Popov V.I., Esaulenko I.E., Lukina S.I., Alekhina N.N. Gingerbreads of enhanced nutritional value with the non-traditional raw materials. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2017; 86 (5): 75–81. (in Russian)

Received 04.07.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

can improve the organoleptic and physico-chemical parameters, increase the antioxidant activity, and enhance the nutritional value of gingerbreads produced according to GOST 15810-2014. It has been found that the consumption of 100 g of enriched gingerbread products satisfied the average daily requirement of protein by 10%, fat by 2–6%, carbohydrates by 19%, dietary fiber by 14%, calcium, potassium and selenium by 5–8%, magnesium, phosphorus and iron from 15 to 30%, vitamins B₁, B₂ and PP by 8–11%, vitamin E by 3–18%, essential amino acids from 9 to 20%.

Keywords: non-traditional raw materials, gingerbreads, quality indicators, nutritional value

Пряники – один из наиболее распространенных продуктов мучной кондитерской отрасли в России. В структуре отечественного производства мучных кондитерских изделий сегмент выработки пряников вместе с коврижками занимает 3-е место с долей 12,8% после печенья (39,1%), тортов и пирожных (17,4%). Большинство пряничных изделий является высокорецептурными продуктами. При их производстве наряду с пшеничной сортовой мукой используют такие ингредиенты, как сахар, жир, яйцопродукты, молочные продукты, которые обуславливают высокую энергетическую ценность этих изделий. В их химическом составе выявлено неоптимальное соотношение основных пищевых веществ: в среднем на 1 часть белка приходится до 16 частей углеводов. Практически все углеводы в таких изделиях простые и легкоусвояемые, жиры чаще всего насыщенные [1, 2].

Для отечественных производителей актуальными задачами в настоящее время являются создание высокоэффективных технологий, повышение потребительских свойств и пищевой ценности изделий, разработка и внедрение оригинальных рецептур изделий повышенной пищевой ценности, функционального назначения. Продукция нового поколения должна содержать физиологически ценные ингредиенты (витамины, минеральные вещества, липиды, пищевые волокна), оказывающие биологически значимое положительное воздействие на организм, предупреждать развитие некоторых болезней, сохранять и укреплять здоровье населения [3, 4].

Корректировка состава пряничных изделий должна быть направлена в сторону снижения содержания усвояемых углеводов, повышения доли белка, пищевых волокон, микронутриентов. Это может быть достигнуто путем применения нетрадиционных видов сырья: цельнозерновой муки из семян нута, зерна пшеницы и отрубей гречишных, масла горчичного. Химический состав данных ингредиентов обуславливает перспективность их использования в технологии новых видов пряничных изделий, обогащенных биологически активными компонентами. Последние практически полностью сохраняются в процессе переработки зерна (семян) в муку. Применяемые нетрадиционные виды муки являются источником полноценного растительного белка, отличаются высоким содержанием незаменимых аминокислот, пищевых волокон, витаминов и минеральных веществ по сравнению с мукой пшеничной сортовой (табл. 1, 2)

[2, 5, 6]. Масло горчичное характеризуется повышенным содержанием полиненасыщенных жирных кислот (линолевой и линоленовой), содержит некоторые жирорастворимые витамины [2].

Цель исследования – повышение показателей качества и пищевой ценности пряничных изделий за счет применения нетрадиционных видов сырья.

Материал и методы

Для исследований использовали муку пшеничную хлебопекарную 1-го сорта (ГОСТ Р 52189-2003), муку из цельнозерновых семян нута (ТУ 9293-001-312366828200094-2013), муку из цельнозернового зерна пшеницы (ТУ 9214-126-02068108-2010), муку из отрубей гречишных (ТУ 9293-293-02068108-2014), сахар белый кристаллический свекловичный (ГОСТ 33222-2015), патоку крахмальную (ГОСТ Р 52060-2003), яйца куриные пищевые (ГОСТ Р 52121-2003), масло горчичное (ГОСТ 8807-94), карбонат аммония (ГОСТ 9325-79), гидрокарбонат натрия (ГОСТ 2156-76), воду питьевую (СанПиН 2.1.4.1074-01).

Исследовали изделия: 1-й образец – пряники глазированные из муки пшеничной 1-го сорта (контроль), 2-й – пряники «Ассорти» с нетрадиционными видами муки, 3-й – пряники «Дошколята» с нетрадиционными видами муки и масла горчичного.

Приготовление теста для контрольного образца осуществляли сырьевым способом согласно технологической инструкции [7]. При приготовлении пряничного теста для 2-го и 3-го опытных образцов нетрадиционные виды муки использовали в виде предварительно подготовленной мучной композитной смеси (МКС) следующего состава: мука из цельнозерновых семян нута – 62%, мука из цельнозернового зерна пшеницы – 33%, мука из отрубей гречишных – 5%. МКС вносили в количестве 50% взамен муки пшеничной 1-го сорта по рецептуре контрольного образца. С целью улучшения качества и продления сроков сохранения свежести изделий тесто для опытных образцов готовили заварным способом. В рецептуре 3-го образца дополнительно использовали масло горчичное в количестве 8% к массе МКС.

Для разработки рационального состава МКС применяли метод симплекс-центрального планирования эксперимента, условием которого является сумма инг-

Таблица 1. Химический состав сырья

Основные пищевые вещества	Содержание пищевых веществ в 100 г сырья				
	мука пшеничная хлебопекарная 1-го сорта [9]	мука из цельносомлотых семян нута	мука из цельносомлотого зерна пшеницы	мука из отрубей гречишных	МКС
Белок, г	10,6	22,4	13,1	21,5	19,2
Жир, г	1,3	4,8	2,2	4,6	3,9
Моно- и дисахариды, г	1,8	3,8	2,5	–	3,2
Крахмал, г	66,7	40,1	55,7	14,8	43,9
Пищевые волокна, г	4,4	11,7	10,8	44,4	13,0
Зола, г	0,7	3,2	1,7	5,2	2,8
Макроэлементы, мг:					
калий	178	968	336	1202	771
кальций	24	193	59	570	168
магний	44	126	107	1032	165
фосфор	115	444	373	580	427
Микроэлементы:					
железо, мг	2,1	2,6	33,0	21,6	13,6
селен, мкг	6	20	8	–	15
Витамины, мг:					
В ₁	0,25	0,29	0,45	0,09	0,34
В ₂	0,08	0,51	0,15	0,13	0,38
РР	2,20	2,25	3,63	3,20	2,75
Е	1,80	–	2,20	3,25	2,18

Здесь и в табл. 2: МКС – мучная композитная смесь.

Таблица 2. Содержание незаменимых аминокислот в сырье и аминокислотный скор

Показатель	Содержание аминокислоты, мг на 1 г белка/ аминокислотный скор относительно идеального белка, %				
	мука пшеничная хлебопекарная 1-го сорта [9]	мука из цельносомлотых семян нута	мука из цельносомлотого зерна пшеницы	мука из отрубей гречишных	МКС
Валин	38,7/77,4	43,1/86,2	36,4/72,8	37,1/74,2	40,6/81,2
Лейцин	101,9/145,6	71,6/102,3	58,5/83,6	47,2/67,4	66,1/94,4
Изолейцин	38,7/96,8	69,8/174,5	35,8/89,5	23,0/57,5	53,1/128,2
Лизин	25,0/45,4	76,9/139,8	27,6/50,2	43,5/79,1	58,0/105,5
Метионин + цистин	38,7/110,6	30,6/87,7	14,6/41,7	13,0/37,1	24,5/70,0
Треонин	29,3/73,2	37,1/92,8	32,4/81,0	38,1/95,2	35,6/89,0
Триптофан	7,5/75,0	11,8/118,0	13,9/139,0	7,3/73,0	12,3/123,0
Фенилаланин + тирозин	54,7/91,2	75,8/126,3	46,4/77,3	54,7/91,2	65,0/108,3
Сумма незаменимых аминокислот, мг	334,5	416,7	265,6	263,9	355,2
Биологическая ценность белка, %	56,0	70,2	62,3	65,3	70,0

редиаментов композиции, равная единице [8]. Установление оптимальной дозировки МКС и масла горчичного в рецептуре изделий осуществляли с помощью центрального композиционного рототабельного планирования эксперимента. Результаты опытов обрабатывались статистически с использованием критериев Стьюдента, Кохрана и Фишера при доверительной вероятности 0,95. Ошибка опыта не превышала 5%. Оптимизацию осуществляли методом неопределенных множителей Лагранжа [8]. Обработку экспериментальных данных осуществляли с использованием пакета прикладных программ MAPLE 8.

Анализ аминокислотного состава белка сырья проводили методом ионообменной хроматографии

на автоматическом аминокислотном анализаторе ААА Т-339 («МИКРОТЕХНА», Чехия), содержание триптофана определяли по методу Лоренцо–Андрю и Франдзена, белок – по ГОСТ 10846-91, водорастворимые углеводы – по ГОСТ Р 51636-2000, жир – по ГОСТ 32905-2014, пищевые волокна – по ГОСТ 31675-2012, витаминный состав (тиамин, рибофлавин, никотиновая кислота, токоферол) – по ГОСТ 29138-91, 29139-91, 29140-91, ГОСТ Р 54634-2011, минеральный состав (калий, кальций, магний, фосфор, железо, селен) – по ГОСТ 32343-2013, 26657-97, ГОСТ Р 55449-2013. Биологическую ценность белков определяли химическим методом путем расчета аминокислотного сора, основанным на сравнении аминокислот-

ного состава изучаемого белка со справочной шкалой аминокислот идеального белка, установленной ФАО/ВОЗ.

Образцы готовых изделий анализировали по органолептическим и физико-химическим показателям, предусмотренным ГОСТ 15810-2014. Влажность определяли по ГОСТ 5900-73, щелочность – по ГОСТ 5898-87, массовую долю общего сахара – по ГОСТ 5903-89, массовую долю жира – по ГОСТ 31902-2012, плотность и намокаемость – по ГОСТ 15810-2014, суммарное содержание антиоксидантов – на анализаторе «ЦветЯуза-01-АА» (ОАО НПО «Химавтоматика», Россия).

Расчет пищевой и энергетической ценности изделий, а также степени покрытия суточной потребности в нутриентах был проведен по программе «COMPLEX», разработанной на кафедре технологии хлебопекарного, кондитерского, макаронного и зерноперерабатывающего производств ФГБОУ ВО «ВГУИТ» на основании методики, утвержденной Институтом питания РАМН (ныне ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи») [7]. Содержание витаминов в изделиях рассчитывали с учетом коэффициентов сохранности.

Результаты и обсуждение

Анализ применяемых в работе нетрадиционных видов муки показал, что все они характеризуются повышенной пищевой ценностью по сравнению с мукой пшеничной 1-го сорта (см. табл. 1, 2).

Мука из цельнозерновых семян нута выделяется по содержанию белка, пищевых волокон и целого ряда микронутриентов, обладающих антиоксидантным действием [9–11]. Сопоставимый анализ состава муки пшеничной 1-го сорта и нутовой показал их существенное различие по основным пищевым веществам: содержание белка в муке из цельнозернового нута в 2 раза больше, крахмала в 1,7 раза меньше. Несмотря на то что содержание жира в 3,7 раза выше, чем в муке пшеничной, он характеризуется повышенным (до 60%) содержанием полиненасыщенных жирных кислот с преобладанием линолевой (ω -6). Жирнокислотный состав липидов, выделенных из семян нута, отличается оптимальным соотношением полиненасыщенных и насыщенных жирных кислот (3:1) [5]. Весьма ценным в нутовой муке является наличие лецитина (в среднем 1,5%) – вещества, входящего в группу фосфолипидов, одного из главных компонентов липидного обмена в клетках организма.

Суммарная доля незаменимых аминокислот в белке нутовой муки составляет 41% массы белка, что обуславливает его высокую биологическую ценность. Аминокислотные скоры по лизину на 94 и треонину на 20% больше, чем у пшеничной муки. Дефицит серосодержащих аминокислот, обусловленный физиологическими особенностями нута, может быть устранен путем совместного использования муки нутовой и пшеничной.

Мука из цельнозернового зерна пшеницы содержит в своем составе 3 основных части зерна: оболочку, алейроновый слой и зародыш. В связи с этим она превосходит муку пшеничную 1-го сорта: отличается повышенным содержанием белка и пищевых волокон в 1,2 и 2,5 раза соответственно, пониженным на 20% содержанием крахмала, увеличенным количеством микронутриентов.

Мука из отрубей гречишных превосходит другие виды и муку пшеничную по содержанию пищевых волокон, макроэлементов (калия, кальция, магния, фосфора), токоферола. По количеству белка на 100 г продукта в 2 раза превышает муку пшеничную, приближаясь к нутовой. По значению биологической ценности белка занимает промежуточное положение между мукой из цельнозерновых семян нута и цельнозернового зерна пшеницы. Содержащиеся в муке рутин и кверцетин, сумма которых в 35 раз больше, чем в муке пшеничной 1-го сорта, обладают антиоксидантным и другими действиями [12].

Исследование внесения нетрадиционных видов муки в различных дозировках взамен муки пшеничной по рецептуре пряников глазированных показало значительное их влияние на качество готового изделия. Выявлено, что увеличение дозировки муки из цельнозерновых семян нута от 25 до 100% к общей массе муки приводило к повышению удельного объема на 2–7% и снижению плотности пряников на 5–16%, однако наблюдалось уменьшение их намокаемости, формоустойчивости и прочности. При применении муки из цельнозернового зерна пшеницы наблюдался обратный эффект: увеличение ее дозировки приводило к снижению удельного объема пряников и повышению остальных физико-химических показателей. Аналогичное влияние оказывало применение гречишных отрубей, причем их максимальная дозировка не превышала 20% к массе муки. Отмечено значительное укрепление теста с внесением муки из цельнозернового зерна пшеницы в дозировке более 50%, а отрубей гречишных – более 10%, что обусловлено высоким содержанием в них пищевых волокон. С целью рационального использования потенциала химического состава сырья и его технологических свойств для получения изделий с высокими показателями качества установлена необходимость совместного применения нетрадиционных видов муки в виде композитной смеси. По содержанию основных пищевых веществ МКС превосходит муку пшеничную 1-го сорта: по белку – в 1,8 раза, пищевым волокнам – в 3 раза, калию, магнию и фосфору – в 4 раза, кальцию – в 7 раз, отличается повышенным содержанием микронутриентов – железа, селена, витаминов В₁, В₂ и Е (см. табл. 1).

Приведенные в табл. 2 данные показывают, что по суммарному содержанию незаменимых аминокислот и биологической ценности белка МКС превосходит муку пшеничную 1-го сорта на 6 и 14% соответственно; повышены аминокислотные скоры по лизину в 2,3 раза и треонину в 1,2 раза.

Дополнительное использование горчичного масла в рецептуре пряников способствует повышению их пищевой ценности за счет внесения незаменимых ω -3 (6%), ω -6 (15%), ω -9 (60%) полиненасыщенных жирных кислот и жирорастворимого витамина-антиоксиданта – токоферола, содержание которого превышает 30 мг на 100 г продукта.

Результаты исследования качества готовых изделий с применением нетрадиционных видов сырья приведены в табл. 3. Пряничные изделия по органолептическим и физико-химическим показателям соответствовали требованиям ГОСТ 15810-2014. Опытные образцы имели гладкую, без трещин поверхность, равномерную пористость и светло-коричневый цвет в изломе, свойственный данному виду изделий вкус и запах с зерновым привкусом. Отмечено увеличение намокаемости на 7 и 18%, снижение плотности на 19 и 25% по сравнению с контрольным образцом, причем более значительные изменения определяемых показателей наблюдались для образца 3 с внесением горчичного масла, что объясняется его свойством пластифицировать тесто. Массовая доля общего сахара снижена на 4%. Значительно повышена антиоксидантная активность пряников за счет внесения с сырьем природных антиоксидантов.

Результаты расчета пищевой и энергетической ценности изделий, биологической ценности белка и степени покрытия суточной потребности в веществах при потреблении пряничных изделий указаны в табл. 4, 5. Опытные образцы, приготовленные с использованием нетрадиционных видов сырья, по химическому составу превосходят контрольный образец.

Содержание белка во 2-м и 3-м образцах на 31 и 24% больше, чем в контрольном, увеличено количество пищевых волокон более чем в 2 раза. В среднем содержание минеральных веществ повышено в 2–3,5 раза, витаминов – в 1,5–2,5 раза. Увеличена биологическая ценность белка экспериментальных образцов пряников: аминокислотный скор по лизину – с 43 до 84%, по валину – с 75 до 80%, по треонину – с 66 до 83%, по триптофану – с 74 до 97%, по остальным аминокислотам (кроме метионина с цистином) АС превышает 100%. При этом значительного увеличения энергетической ценности изделий не наблюдалось. Состав 3-го образца более приближен к требованиям формулы сбалансированного питания по соотношению белков, жиров и углеводов, которое составило 1:0,7:9 против 1:0,2:12,7 в контроле.

Суммарное содержание незаменимых аминокислот во 2-м и 3-м образцах увеличено на 39 и 34% по сравнению с контролем (1-й образец). Опытные пряничные изделия по биологической ценности белка превосходят образец сравнения в среднем на 28%.

Потребление 100 г разработанных пряничных изделий (2-й и 3-й образцы) обеспечит удовлетворение суточной потребности в белке на 10%, жире – на 2–6%, углеводах – на 19%, пищевых волокнах – на 14%, кальции, калии и селене – на 5–8%, в магнии, фосфоре и железе – на 15–30%, 3 витаминах группы В – на 8–11%, витамине Е – на 3–18%, незаменимых аминокислотах – на 9–20%.

Таким образом, в ходе проведенных исследований установлено улучшение качества и повышение пищевой ценности пряничных изделий за счет применения нетрадиционных видов сырья.

Таблица 3. Показатели качества пряничных изделий

Показатель	Образец		
	1-й (контрольный)	2-й	3-й
Вкус и запах	Изделия с ярко выраженным сладким вкусом и ароматом, свойственными данному наименованию пряничного изделия, без постороннего вкуса и запаха	Изделия с менее выраженным сладким вкусом, со слабым привкусом и ароматом вносимой мучной смеси, без постороннего вкуса и запаха	
Структура	Изделия с мягкой, связанной структурой, не рассыпающиеся при размывании		
Цвет	Равномерный по всему объему, светло-желтый	Равномерный по всему объему, светло-коричневый	
Вид в изломе	Пропеченные изделия с равномерной хорошо развитой пористостью, без пустот, закала и следов непромеса		
Поверхность	Сухая, без трещин, вздутий, впадин, не подгоревшая		
Форма	Правильная, без вмятин, с выпуклой верхней поверхностью		
Массовая доля влаги, %	13,5	13,5	13,2
Щелочность, градус	1,8	1,6	1,6
Массовая доля общего сахара, % в пересчете на сухое вещество	42±1	38±1	38±1
Массовая доля жира, % в пересчете на сухое вещество	1±0,5	1±0,5	7±1,5
Намокаемость, %	180	187	198
Плотность, г/см ³	0,68	0,55	0,51
Суммарное содержание антиоксидантов, мг/100 г	0,1	1,2	1,5

Таблица 4. Химический состав, энергетическая ценность и степень удовлетворения суточной потребности в нутриентах за счет пряничных изделий

Основные пищевые вещества	Показатели образцов						Суточная потребность, г (мг)*
	1-й (контрольный)		2-й		3-й		
	содержание в 100 г	удовлетворение суточной потребности, %	содержание в 100 г	удовлетворение суточной потребности, %	содержание в 100 г	удовлетворение суточной потребности, %	
Белки, г	6,1	8	8,0	11	7,6	10	75
Жиры, г	1,0	1	1,6	2	5,2	6	83
Углеводы, г	77,5	22	72,0	20	69,1	19	365
Пищевые волокна, г	1,9	6	4,4	15	4,2	14	30
Зола, г	0,5	–	1,0	–	0,9	–	–
Минеральные вещества, мг:							
калий	106	3	265	8	256	7	3500
кальций	17	2	56	6	53	5	1000
магний	25	6	59	15	56	14	400
фосфор	72	9	156	20	149	19	800
железо	1,2	8	4,5	32	4,0	28	14
селен, мкг	2	3	5	7	4,6	7	70
Витамины, мг:							
В ₁	0,13	9	0,16	11	0,15	11	1,4
В ₂	0,05	3	0,14	9	0,13	8	1,6
РР	1,22	7	1,95	11	1,92	11	18
Е	0,12	1	0,25	3	1,86	18	10
Энергетическая ценность, ккал/кДж	343/1436	14	334/1398	13	354/1482	14	2500/10 467

Примечание. * – Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 022/2011 (Приложение 2).

Таблица 5. Содержание незаменимых аминокислот, аминокислотный скор (АС) и биологическая ценность белка в изделиях

Показатель	Образец									Адекватный уровень суточного потребления, мг*
	1-й (контрольный)			2-й			3-й			
	содержание, мг в 100 г продукта	АС, %	удовлетворение суточной потребности, %	содержание, мг в 100 г продукта	АС, %	удовлетворение суточной потребности, %	содержание, мг в 100 г продукта	АС, %	удовлетворение суточной потребности, %	
Валин	228	74,8	9	324	81,0	13	303	79,7	12	2500
Изолейцин	228	93,4	5	391	122,2	20	375	123,4	19	2000
Лейцин	602	141,0	13	646	115,4	14	620	116,5	13	4600
Лизин	144	42,9	4	369	83,9	9	354	84,7	9	4100
Метионин + цистин	228	106,8	13	241	86,1	13	232	87,2	13	1800
Треонин	162	66,4	7	266	83,1	11	256	84,2	11	2400
Триптофан	45	73,8	6	78	97,5	10	75	98,7	9	800
Фенилаланин + тирозин	462	126,2	11	593	123,5	13	592	129,8	13	4400
Биологическая ценность, %	52,2			81,9			79,2			–

Примечание. * – Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) Таможенного союза ЕврАзЭС (Приложение 5).

Сведения об авторах

Пономарева Елена Ивановна – доктор технических наук, профессор кафедры технологии хлебопекарного, кондитерского, макаронного и зерноперерабатывающего производств ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»
E-mail: elena6815@yandex.ru

Попов Валерий Иванович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей гигиены ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России
E-mail: 9038504004@mail.ru

Есауленко Игорь Эдуардович – доктор медицинских наук, профессор, ректор ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России
E-mail: sirostovceva@vrngmu.ru

Лукина Светлана Ивановна – кандидат технических наук, доцент кафедры технологии хлебопекарного, кондитерского, макаронного и зерноперерабатывающего производств ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»
E-mail: lukina.si@yandex.ru

Алехина Надежда Николаевна – кандидат технических наук, доцент кафедры технологии хлебопекарного, кондитерского, макаронного и зерноперерабатывающего производств ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»
E-mail: nadinat@yandex.ru

Литература

- Кузнецова Л.С., Сиданова М.Ю. Технология приготовления мучных кондитерских изделий. М. : Мастерство, 2002. 320 с.
- Таблицы химического состава и калорийности российских продуктов питания : справочник / под ред. И.М. Скурихина, В.А. Тутельяна. М. : ДеЛи принт, 2007. 276 с.
- Пат. РФ 2386254; заявл. 29.10.2008 «Способ производства заварных пряников повышенной пищевой ценности» / Магомедов Г.О., Лукина С.И., Алехина Н.Н., Черемушкина И.В., Аносова А.С.
- Савенкова Т.В. Производство функциональных кондитерских изделий – проблемы и пути их решения // Кондитерское и хлебопекарное производство. 2012. № 7. С. 6–7.
- Магомедов Г.О., Садыгова М.К., Лукина С.И. Нут Саратовской селекции в технологии хлебобулочных и мучных кондитерских изделий : монография. Воронеж: ВГУИТ, 2015. 175 с.
- Пономарева Е.И., Лукина С.И., Одинцова А.В., Зубкова Е.В. Нетрадиционное сырье для функциональных видов хлеба и пряников // Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции «Современное хлебопекарное производство: перспективы развития». Екатеринбург, 2015. С. 64–67.
- Сборник рецептов на торты, пирожные, кексы, рулеты, печенье, пряники, коврижки и сдобные булочные изделия / под ред. А.П. Антонова. М. : Хлебпродинформ, 2000. 720 с.
- Дерканосова Н.М., Журавлев А.А., Сорокина И.А. Моделирование и оптимизация технологических процессов пищевых производств. Воронеж : ВГТА, 2011. 196 с.
- Магомедов Г.О., Рудась П.Г., Шевякова Т.А. Экструдированные продукты повышенной пищевой ценности из нута // Хранение и переработка сельхозсырья. 2006. № 6. С. 32–36.
- Аникеева Н.В., Антипова Л.В. Нут – источник сырья для получения биологически ценных добавок // Кондитерское производство. 2006. № 1. С. 35–36.
- Пашенко Л.П., Курчаева Е.Е., Кулакова Ю.А. Яковлев Е.А. Некоторые сведения о нуте и применении его в продуктах питания // Хранение и переработка сельхозсырья. 2004. № 4. С. 59–60.
- Пономарева Е.И., Лукина С.И., Алехина Н.Н. и др. Гречишные отруби – перспективное сырье для продуктов питания // Хлебопродукты. 2015. № 6. С. 42–44.

References

- Kuznetsova L.S., Sidanova M.Ju. Technology of preparation of flour confectionery products. Moscow: Masterstvo, 2002: 320 p. (in Russian)
- Skurihin I.M., Tutel'jan V.A. Tables and chemical composition of Russian caloric value food products. Handbook. Moscow: DeLi print, 2007: 276 p. (in Russian)
- Magomedov G.O., Lukina S.I., Alehina N.N., et al. A method of producing gingerbreads increased nutritional value: Pat. 2386254 RU. 2010: 8 p. (in Russian)
- Savenkova T.V. Production of functional confectionery – problems and solutions. Konditerskoe i hlebopekarnoe proizvodstvo [Confectionery and Bakery Production]. 2012; (7): 6–7. (in Russian)
- Magomedov G.O., Sadygova M.K., Lukina S.I. Chickpea selection in the Saratov in technology of bakery and flour confectionary products : monograph. Voronezh: VGUIT, 2015: 175 p. (in Russian)
- Ponomareva E.I., Lukina S.I., Odincova A.V., Zbukova E.V. Non-traditional raw material for functional breads and gingerbreads. Sbornik nauchnyh trudov Vserossijskoj nauch-no-prakticheskoy konferencii «Sovremennoe hlebopekarnoe proizvodstvo: perspektivy razvitiya» [Collection of scientific works of the All-Russian scientific-practical conference «Modern Bakery: Prospects of Development»]. Ekaterinburg, 2015: 64–7. (in Russian)
- Antonov A.P. (ed.). Collection of recipes for cakes, pies, muffins, rolls, cookies, gingerbreads, honey cakes and rich bakery products. Moscow: Hlebprodinform, 2000: 720 p. (in Russian)
- Derkanosova N.M., Zhuravlev A.A., Sorokina I.A. The modeling and optimization of technological processes of food production. Voronezh: VGTA, 2011. 196 p. (in Russian)
- Magomedov G.O., Rudas' P.G., Shevjakova T.A. Extruded products of high nutritional value from chickpeas. Khranenie i pererabotka sel'khozsyra' [Storage and Processing of Agricultural Raw Materials]. 2006; (6): 32–6. (in Russian)
- Anikeeva N.V., Antipova L.V. Chickpea – a source of raw material for production of biologically valuable additives. Konditerskoe proizvodstvo [Confectionery Production]. 2006; (1): 35–6. (in Russian)
- Pashhenko L.P., Kurchaeva E.E., Kulakova Ju.A. Jakovlev E.A. Some information about chickpea and its application in food. Khranenie i pererabotka sel'khozsyra' [Storage and Processing of Agricultural Raw Materials]. 2004; (4): 59–60. (in Russian)
- Ponomareva E.I., Lukina S.I., Alehina N.N., et al. Buckwheat bran – perspective raw material for food products. Khleboprodukty [Bakery]. 2015; (6): 42–4. (in Russian)

Для корреспонденции

Машенцева Наталья Геннадьевна – доктор технических наук, профессор РАН, заведующая кафедрой биотехнологии и технологии продуктов биоорганического синтеза ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

Адрес: 125080, г. Москва, Волоколамское шоссе, д. 11

Телефон: (499) 750-01-11, доб. 1021

E-mail: natali-mng@yandex.ru

Клабукова Д.Л.¹, Колотвина С.В.², Титов Е.И.¹, Машенцева Н.Г.¹

Изучение влияния композиции стартовых культур на уровень холестерина в ферментированных мясных продуктах

The study of starter cultures compositions influence on the cholesterol level in fermented meat products

Klabukova D.L.¹, Kolotvina S.V.², Titov E.I.¹, Mashentseva N.G.¹

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

² ООО «Компания Хеликон», Москва

¹ Moscow State University of Food Production

² Ltd «Helicon Company», Moscow

В статье рассмотрена возможность использования композиций стартовых культур для снижения содержания холестерина в мясных ферментированных продуктах. Анализ результатов собственных исследований и данных литературы позволил заключить, что способность снижать холестерин in vitro стартовыми культурами является штаммоспецифичным признаком. С учетом технологических свойств и способности снижать холестерин in vitro предложены 6 композиций стартовых культур микроорганизмов, относящиеся к трем родам: Lactobacillus, Pediococcus и Staphylococcus (из коллекции ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»). Отсутствие антагонизма между штаммами внутри каждой композиции было определено методом перпендикулярных штрихов. Штаммы каждой композиции культивировали совместно в питательной среде, содержащей холестерин. Остаточное содержание холестерина в среде определяли через 24 ч методом Златкиса–Зака, основанном на реакции холестерина с FeCl₃ в присутствии концентрированной серной и ледяной уксусной кислот с образованием комплекса желтого цвета. Установлено, что композиции проявляют большую активность к редукации холестерина, чем каждый штамм по отдельности. Выявлен синергетический эффект в редукации холестерина штаммами стартовых культур, вошедших в состав композиций. Снижение холестерина составило 25,0–45,7% от его исходного содержания в среде. В тех композициях, в которые входили штаммы с высокой способностью к снижению холестерина, общая способность к редукации холестерина также была выше. Установлено, что стартовые культуры снижают холестерин не только in vitro, но и в процессе ферментации мясного сырья при производстве сырокопченых колбас. Для производства сырокопченной колбасы была выбрана композиция: Lactobacillus

Для цитирования: Клабукова Д.Л., Колотвина С.В., Титов Е.И., Машенцева Н.Г. Изучение влияния композиции стартовых культур на уровень холестерина в ферментированных мясных продуктах // *Вопр. питания.* 2017. Т. 86. № 5. С. 82–90.

Статья поступила в редакцию 06.06.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Klabukova D.L., Kolotvina S.V., Titov E.I., Mashentseva N.G. The study of starter cultures compositions influence on the cholesterol level in fermented meat products. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition].* 2017; 86 (5): 82–90. (in Russian)

Received 06.06.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

sakei 105, Pediococcus pentosaceus 31, Staphylococcus xylosus 45 в соотношении 1:1:1. Бактериальную композицию вносили в мясное сырье на стадии фаршесоставления в количестве 10^9 КОЕ/г фарша. Содержание холестерина в мясном фарше и в готовых сырокопченых колбасах было определено методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. В фарше оно составило 840 ± 10 мг/кг, в контрольном образце готовых колбасных изделий – 971 ± 15 мг/кг. Увеличение содержания холестерина, по-видимому, обусловлено потерей массы продукта в результате сушки. В опытном образце с добавлением бактериальной композиции содержание холестерина снизилось на 21,4% по сравнению с контрольным (763 ± 12 мг/кг).

Ключевые слова: холестерин, стартовые культуры, бактериальная композиция, сырокопченые колбасы, ферментированные мясные продукты

The article considers the possibility of using starter cultures compositions to reduce cholesterol in meat fermented products. An analysis of own researches and other scientific data allowed to conclude that the ability to reduce cholesterol by starting cultures in vitro is the strain-specific property. In view of the technological properties and the ability to reduce cholesterol in vitro, six compositions of starter cultures from the MGUPP collection were suggested. The compositions consisted of microorganisms belonging to the three genera: Lactobacillus, Pediococcus and Staphylococcus. The absence of antagonism between the strains within each composition was determined by perpendicular strokes. Strains of each composition were co-cultured in a medium containing cholesterol. The residual cholesterol amount in the medium was determined after 24 hours by the Zlatkis–Zakmethod. This method is based on the cholesterol reaction with $FeCl_3$ in the presence of concentrated sulfuric acid and glacial acetic acid to form a yellow colored complex. It was found that the compositions showed stronger activity for cholesterol reduction than each strain separately. Synergistic effect of cholesterol reduction was detected in starter cultures strains included into compositions. Reduction of cholesterol observed at 25.0–45.7% of its initial concentration in the medium. In those compositions, which included strains with a high capacity to reduce cholesterol, total cholesterol degradation ability was also higher. It was found that starter cultures reduced cholesterol not only in vitro, but also in the process of meat raw material fermentation in production of dry-smoked sausage. Composition a (Lactobacillus sakei 105, Pediococcus pentosaceus 31, Staphylococcus xylosus 45 at a ratio of 1:1:1) was chosen for the manufacture of dry-smoked sausage. Bacterial composition was introduced into the meat raw materials on the mince preparation step in an amount of 10^9 CFU/g mince. Cholesterol maintenance in minced meat and ready-made dry-smoked sausages was determined by HPLC. In minced meat it was 840 ± 10 mg/kg. In the ready sausages the greatest amount of cholesterol was detected in the control sample and was 971 ± 15 mg/kg. Increasing cholesterol levels apparently due to loss of product weight by drying. Cholesterol level decreased by 21.4% in the test sample with the addition of bacterial composition (763 ± 12 mg/kg).

Keywords: cholesterol, starter culture, bacterial composition, dry-smoked sausage, fermented meat products

Нерациональное питание, малоподвижность, стрессовые ситуации способствуют развитию атеросклероза. В связи с этим коррекция образа жизни, в том числе изменение рациона питания, позволит снизить риск возникновения данного заболевания [1]. В рационах здорового питания большое значение уделяется включению пищевых продуктов – источников полноценного белка, содержащих пониженное количество холестерина.

Считалось, что основным путем превращения холестерина в организме человека является его окисление в процессах энергетического обмена до желчных кислот. Однако холестерин и его производные могут быть использованы в процессах пластического обмена микрофлоры желудочно-кишечного тракта [2].

Катаболизм холестерина до различных продуктов, которые утрачивают негативные свойства холестерина, способен осуществляться ферментными системами микроорганизмов. Количественный и качественный состав микроорганизмов влияет на скорость и глубину микробной трансформации холестерина, причем некоторые бактерии, благодаря своим ферментным системам, обладают способностью полностью деградировать холестерин. Кроме того, бактерии способны вызывать деструкцию и трансформацию желчных кислот, изменение концентрации которых индуцирует или ингибирует синтез холестерина. Так, при исследовании около 5000 штаммов *E. coli* было установлено, что холестеринразрушающей способностью обладали 40% бактерий, холестеринмодифицирующей – 28%, холестеринсинтезирующей – 32% штаммов [3].

Микроорганизмы, связывающие холестерин, сорбируют различные жирные кислоты (пальмитиновую, олеиновую и др.). Многие бактерии способны ассимилировать холестерин в присутствии желчи при более низких pH среды (<6,0) [2, 4, 5]. При изучении данных свойств штаммов *Lactobacillus fermentum* из сыра Тулум были отобраны 7 штаммов *L. fermentum*, уровень ассимиляции холестерина которыми колебался между 12,1 и 45,3% в среде MRS и 20,7–71,1% в среде MRS с желчью [6].

Известно о холестериндеградирующей активности штаммов для кисломолочных продуктов. В 1995 г. было высказано предположение, что деконъюгация желчных кислот пробиотическими бактериями и ассимиляция холестерина лактобациллами и бифидобактериями вносят вклад в гипохолестеринемический эффект кисломолочных продуктов [7].

При оценке потенциальных пробиотических свойств 17 штаммов ацидофильных лактобактерий *Lactobacillus gasseri* спектрофотометрическим методом было установлено, что *L. gasseri* 4/13 снижал концентрацию холестерина в среде роста на 65% по сравнению с исходной концентрацией [8].

Было показано, что при развитии пробиотических бактерий, используемых при производстве кисломолочных продуктов, в питательной среде штаммы проявили различную способность к редукции холестерина. Установлено, что штаммы *B. bifidum* GG-72, *B. adolescentis* BGV-11 проявляли наибольшую активность к снижению уровня холестерина: 37,6 и 33,6% соответственно. Близкие по значению результаты показали штаммы *L. plantarum* ГВИ-1, *L. fermentum* LFM-2 и *L. rhamnosus* LC-52GV: 30,6, 29,6 и 27,1% соответственно, которые также проявляли способность к редукции холестерина [9].

Мясные продукты занимают значительную долю в повседневном рационе питания людей. Содержание холестерина в мясе и мясных продуктах варьирует в широких пределах: от 40 до 2300 мг/100 г. Достаточно высоко содержание холестерина в вареных колбасных изделиях – около 80 мг на 100 г изделия, а в сырокопченой колбасе холестерина содержится около 110 мг/100 г [10].

Известно, что в технологии ферментированных мясных продуктов обязательным условием для придания продукту требуемых характеристик, сокращения времени созревания, увеличения выхода готового продукта, продления сроков его хранения и повышения микробиологической безопасности является введение в рецептуру стартовых культур [11–13]. К промышленно ценным свойствам стартовых культур относятся сбраживание углеводов с образованием молочной кислоты, солеустойчивость, способность к денитрификации, антагонистическая активность по отношению к санитарно-показательной микрофлоре, синтез бактериоцинов и антибиотикоподобных соединений, способность к липолизу, протеолизу и образованию вкусоароматических соединений, способность утилизировать кислород и его активные формы за счет выделения таких ферментов,

как каталаза, пероксидаза и супероксиддисмутаза, снижение уровня нежелательных соединений (токсинов, биогенных аминов, D(–)-молочной кислоты) [13].

В мясной промышленности широко используют различные бактериальные препараты, включающие несколько штаммов разных таксономических групп [13, 14]. Поэтому особый интерес представляет изучение способности снижать холестерин именно композицией стартовых культур. В связи с этим создание композиций стартовых культур, способных снижать уровень холестерина, и изучение их влияния на редукцию холестерина *in vitro* и в натуральном мясном продукте актуально и перспективно.

В задачи данного исследования входила оценка антагонистического эффекта штаммов, входящих в состав композиции, выбор наиболее эффективной *in vitro* бактериальной композиции, способной снижать холестерин, и апробация ее в процессе ферментации мясного сырья при производстве сырокопченых колбас.

Материал и методы

Для создания бактериальной композиции, состоящей из стартовых культур разных таксономических групп, необходимо изучить способность микроорганизмов к совместному росту и размножению. Характер взаимоотношения таких культур определяли методом перпендикулярных штрихов [15]. Бактериологической петлей один из изучаемых штаммов высевали по диаметру чашки Петри на плотную (агаризованную) среду MRS, специально предназначенную для культивирования молочнокислых микроорганизмов, затем перпендикулярно ему высевали другие штаммы. Культивирование проводили при 37 °C в течение 24 ч. В случае обнаружения антагонизма у культур микроорганизмов на стыке штрихов видна зона подавления роста.

Молочнокислые и другие микроорганизмы из коллекции ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств» для оценки холестеринредуцирующей активности выращивали в течение 24 ч в жидкой питательной среде MRS с добавлением холестерина (холестерин LS для биохимии, 95% основного вещества, Рапгеас) конечной концентрации 70 мг на 100 см³. Посевная доза микроорганизмов, определяемая с помощью оптического стандарта мутности Мак-Фарланда, для всех штаммов составляла 10⁸ КОЕ/см³, конечная концентрация после 24 ч инкубации – 3×10⁹ КОЕ/см³. Поскольку холестерин в чистом виде нерастворим в воде, его растворяли при нагревании в смеси 99% этанола и Твина-80 в соотношении 3:1 до концентрации в растворе 3 мг на 1 см³.

Определение концентрации холестерина в культуральной жидкости проводили спектрофотометрически при длине волны 560 нм по методу Златкиса–Зака. В ходе исследования использовали 3 показателя оптической плотности: питательный бульон (холостая проба); питательный бульон с холестерином и Твином-80 (конт-

роль); питательный бульон с холестерином после культивирования в ней микробных культур и освобожденная от клеток центрифугированием (опытные пробы). Снижение концентрации холестерина (в %) вычисляли по формуле Златкиса–Зака [16].

Метод определения основан на реакции холестерина с FeCl_3 в присутствии концентрированной серной и ледяной уксусной кислот с образованием комплекса желтого цвета. Пробу объемом 0,1 см³ растворяли в 3,0 см³ ледяной уксусной кислоты, после чего добавляли 2,0 см³ цветного реагента (10% раствор хлорида железа (III) в 100% ледяной уксусной кислоте, разведенный в 100 раз концентрированной серной кислотой) и аккуратно перемешивали, избегая образования пузырьков. Полученные растворы охлаждали при комнатной температуре и проводили измерение экстинкции опытных проб против контрольной (без содержания холестерина) при длине волны 560 нм в кюветах с длиной оптического пути 1 см. В качестве нулевой точки брали пробу, содержащую только холестерин, без добавления исследуемых культур.

Содержание холестерина (D , %) в исследуемых пробах рассчитывали по формуле:

$$D = 100 - \frac{E_{оп}}{E_{нул}} \times 100\%,$$

где $E_{оп}$ – экстинкция опытной пробы, единицы оптической плотности; $E_{нул}$ – экстинкция нулевой пробы, единицы оптической плотности.

Поскольку в мясе холестерин главным образом локализован в клеточных мембранах и находится в свободном, незетифицированном виде, в эксперименте использовали холестерин в виде раствора химически чистого вещества.

Для исследования влияния бактериальной композиции на содержание холестерина были выработаны образцы сырокопченой колбасы (опытный – с внесением выбранной бактериальной композиции, контрольный – без стартовых культур) по традиционной технологии. Сырокопченая колбаса была выработана из говядины и свиного шпика в соответствии с рецептурой, представленной в табл. 1.

Таблица 1. Рецептура сырокопченой колбасы

Компонент	Количество, кг/100 кг
Говядина высший сорт (охлажденная)	75
Шпик свиной	21,5
Нитритно-посолочная смесь «НИСО-2»	2,5
Специи	1

Физико-химические показатели опытного и контрольного образцов готового продукта достоверно не различались, микробиологические показатели соответствовали требованиям ТР ТС 021/2011.

В готовых продуктах было определено содержание холестерина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием хроматографической системы («Кнауер», Германия) со спектрофотометрическим детектором К-2500 и программного обеспечения «Мультихром» (ООО «Амперсенд», РФ).

Эксперименты по влиянию бактериальных композиций стартовых культур на деструкцию холестерина *in vitro*, а также оценку уровня холестерина в образцах сырокопченых колбас проводили в 3 повторностях. Статистическую обработку результатов проводили на основе нормального распределения.

Результаты и обсуждение

При разработке бактериальной композиции были отобраны микроорганизмы с известными технологическими свойствами, прежде всего по:

- способности к быстрому и контролируемому снижению уровня pH (*Lactobacillus curvatus* 1, *Lactobacillus sakei* 35, *Lactobacillus plantarum* 19, *Pediococcus pentosaceus* 31, *Pediococcus pentosaceus* 28);
- наличию ферментов для безопасного образования окраски с помощью нитритредуктазы (*Staphylococcus xylosus* 45, *Staphylococcus carnosus* 108, *Staphylococcus carnosus* 111-2);
- наличию ферментов для защиты липидов от окисления каталазы и пероксидазы (*Staphylococcus xylosus* 45, *Staphylococcus carnosus* 108, *Staphylococcus carnosus* 111-2), супероксиддисмутазы (*Lactobacillus curvatus* 1, *Lactobacillus sakei* 104, *Lactobacillus sakei* 105, *Lactobacillus sakei* 35, *Lactobacillus plantarum* 19, *Lactobacillus casei* 10, *Staphylococcus xylosus* 45, *Staphylococcus carnosus* 108, *Staphylococcus carnosus* 111-2);
- способности к формированию вкуса и аромата за счет определенных метаболитов стартовых культур, в том числе синтеза фермента глутаматдегидрогеназы (*Lactobacillus plantarum* 19, *Lactobacillus sakei* 35, *Lactobacillus sakei* 104, *Staphylococcus carnosus* 111-2);
- наличию бактериоцинов, способствующих стойкости продукта при хранении и подавляющих рост санитарно-показательной микрофлоры (*Lactobacillus sakei* 104, *Lactobacillus sakei* 105, *Lactobacillus plantarum* 19, *Staphylococcus carnosus* 108, *Staphylococcus carnosus* 111-2, *Pediococcus pentosaceus* 28) [13].

Также учитывали способность снижать содержание холестерина в питательной среде *in vitro*, определенную нами ранее у 43 штаммов [17]. Редукция холестерина составила: для 5 штаммов *Lactobacillus curvatus* – 9,2–32,0%; 7 штаммов *Lactobacillus sakei* – 8,9–21,1%; штамма *Lactobacillus casei* – 18,5%; 7 штаммов *Lactobacillus plantarum* – 11,8–24,3%; 8 штаммов *Pediococcus acidilactici* – 5,0–16,9%; 5 штаммов *Pediococcus pentosaceus* – 0–22%; 5 штаммов *Staphylococcus carnosus* – 0–25,7%; 2 штаммов *Staphylococcus xylosus* – 17,2–

27,6%. Данное исследование подтвердило предположение, что способность снижать холестерин является штаммоспецифичным признаком микроорганизмов.

Из штаммов, способных снижать холестерин *in vitro*, были сформированы 6 бактериальных композиций, содержащих по 3 штамма каждая (табл. 2). В состав композиции входили микроорганизмы, относящиеся к трем родам: *Lactobacillus*, *Pediococcus* и *Staphylococcus*. В каждую композицию входил денитрифицирующий стафилококк, способный эффективно восстанавливать в колбасном фарше нитрит натрия до оксида азота; педиококк, синтезирующий бактериоцины, подавляющие рост санитарно-показательной микрофлоры; микроорганизм рода *Lactobacillus*, активно синтезирующий молочную кислоту для быстрого и контролируемого снижения уровня pH [13].

Штаммы, входящие в бактериальную композицию, должны обладать взаимной совместимостью. При определении возможности совместного использования стартовых культур методом перпендикулярных штрихов не отмечено антагонистического эффекта между штаммами, поэтому они могут использоваться совместно в качестве стартовых культур.

В исследованиях *in vitro* питательная среда MRS содержала 70 мг на 100 см³ холестерина. Установлено, что композиции проявляют большую способность к редукции холестерина, чем штаммы в монокультуре. Выявлен значительный синергетический эффект в редукции холестерина штаммами стартовых культур, вошедших в состав композиций *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *f*. Снижение холестерина отмечено на уровне (в %): 45,7±0,4, 41,3±0,5, 42,5±0,4, 38,7±0,35, 25±0,6, 31,5±0,3 от его исходного содержания в среде для композиций *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *f* соответственно. В то же время необходимо отметить, что в тех композициях, в которые входили штаммы с высокой способностью к снижению холестерина, общая способность к редукции холестерина также была выше (см. рисунок).

Полученные данные позволяют сделать заключение, что композиции из стартовых культур в большей степени редуцировали холестерин по сравнению со штаммами в монокультуре. По-видимому, такое благоприятное сосуществование микроорганизмов позволило усилить их физиологические функции, что привело к более быстрому воздействию на холестерин в питательной среде.

Погрешность измерений составляет 10% от истинного значения с вероятностью 0,9.

Это подтверждает данные, полученные ранее нами с соавторами, что консорциумы, используемые при производстве кисломолочных продуктов, проявляют большую способность к редукции холестерина, чем монокультуры. Консорциум, включающий, кроме штаммов *Lactobacillus*, штамм *B. bifidum* GG-72, редуцировал холестерин на уровне 47,6%, тогда как консорциум с теми же штаммами лактобактерий и со штаммом *B. adolescentis* BGV-11 снижал уровень холестерина на 40,2% от его исходного содержания в среде [9].

Для производства сырокопченой колбасы была выбрана композиция *a*: *Lactobacillus sakei* 105, *Pediococcus pentosaceus* 31, *Staphylococcus xylosus* 45 в соотношении 1:1:1. Бактериальную композицию, которая показала наибольшее снижение холестерина *in vitro*, вносили в мясное сырье на стадии фаршесоставления из расчета 10⁹ КОЕ/г фарша.

Штамм *Lactobacillus curvatus* 1 обладает быстрым кислотообразованием, инактивирует активные формы кислорода и связывает ионы металлов переменной валентности в условиях *in vitro* [13, 18].

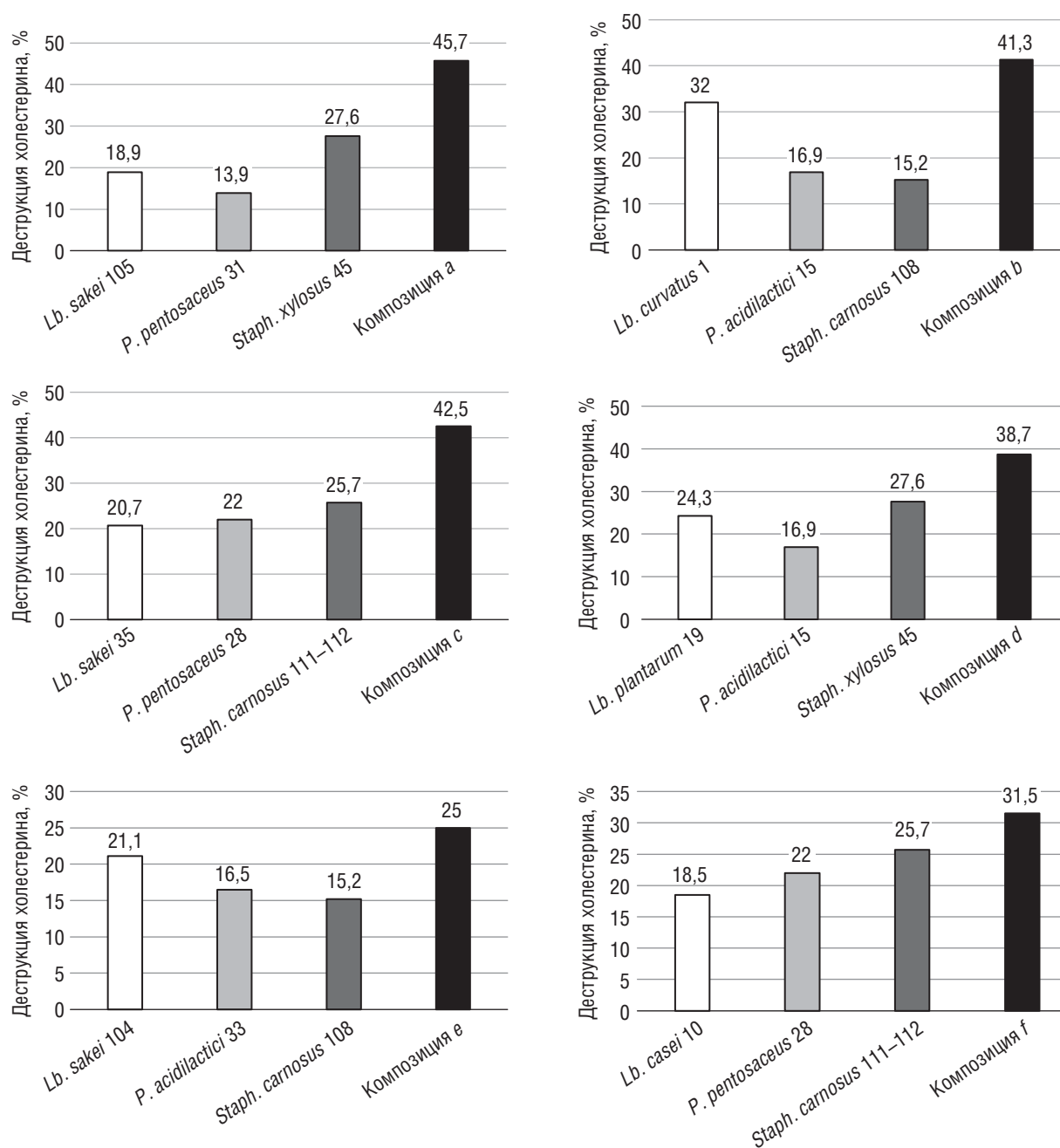
Staphylococcus carnosus 108 является денитрифицирующим штаммом, восстанавливающим нитрит натрия до окиси азота как в условиях *in vitro*, так и в мясном продукте [13]. Оксид азота является токсичным соединением для бактерий рода *Clostridium* и *Listeria*, которые имеют низкую концентрацию ферментов, участвующих в метаболизме нитрита [19]. Группой ученых было показано, что оксид азота в 125 раз более эффективно действует на данные бактерии, чем сам нитрит натрия [20].

Pediococcus pentosaceus 28, *Lactobacillus plantarum* 19 продуцируют бактериоцины, подавляющие рост представителей санитарно-показательной микрофлоры, что показано в исследованиях *in vitro* [13].

Содержание холестерина в исходном фарше составило 840±10 мг/кг. При изучении содержания холестерина в готовых колбасных изделиях наибольшее его количество было выявлено в контрольном образце и составило 971±15 мг/кг. Увеличение содержания холестерина, по-видимому, обусловлено испарением влаги и потерей массы продукта в результате сушки. В опытном образце с добавлением бактериальной композиции содержание холестерина снизилось на 21,4% (763±12 мг/кг), до уровня ниже, чем в контрольном образце. Необходимо отметить, что степень снижения холестерина

Таблица 2. Состав композиций стартовых культур

Композиция <i>a</i>	Композиция <i>b</i>	Композиция <i>c</i>
<i>Lactobacillus sakei</i> 105	<i>Lactobacillus curvatus</i> 1	<i>Lactobacillus sakei</i> 35
<i>Pediococcus pentosaceus</i> 31	<i>Pediococcus acidilactici</i> 15	<i>Pediococcus pentosaceus</i> 28
<i>Staphylococcus xylosus</i> 45	<i>Staphylococcus carnosus</i> 108	<i>Staphylococcus carnosus</i> 111-2
Композиция <i>d</i>	Композиция <i>e</i>	Композиция <i>f</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i> 19	<i>Lactobacillus sakei</i> 104	<i>Lactobacillus casei</i> 10
<i>Pediococcus acidilactici</i> 15	<i>Pediococcus acidilactici</i> 33	<i>Pediococcus pentosaceus</i> 28
<i>Staphylococcus xylosus</i> 45	<i>Staphylococcus carnosus</i> 108	<i>Staphylococcus carnosus</i> 111-2



Степень редукции холестерина отдельными штаммами и в составе композиций в питательной среде (от уровня 70 мг на 100 см³)

в продукте была ниже, чем в питательной среде, более чем в 2 раза, однако и исходный уровень холестерина в фарше был ниже в 10 раз по сравнению с величиной опыта *in vitro*.

Таким образом, внесение композиции стартовых культур позволило снизить содержание холестерина в продукте за счет ферментативной активности микроорганизмов. Продолжительность процесса ферментации положительно коррелирует со степенью редукции холестерина, однако в данном исследовании образцы сырокопченой колбасы были выработаны по традиционной технологии с соблюдением технологических сроков, и результаты получены по окончании технологического процесса.

Полученные экспериментальные данные по влиянию бактериальных стартовых культур на содержание холестерина *in vitro* и в пищевом продукте согласуются с результатами исследований зарубежных авторов. В работе R. Azat штамм *L. rhamnosus* R4 из традиционного ферментированного сыра Синьцзян продемонстрировал деградацию холестерина и триглицеридов на 50,97 и 28,92% соответственно [21]. В другом исследовании 9 из 122 штаммов *Enterococcus faecium*, выделенных из традиционного домашнего сыра Тафи, были способны удалять холестерин в анализах *in vitro* [22]. В 2015 г. штаммы дрожжей из некоторых зерновых культур на основе нигерийских традиционных фермен-

тированных пищевых продуктов *Pichia kluyveri* LKC17, *Issatchenkia orientalis* OSL11, *Pichia kudriavzevii* OG32, *Pichia kudriavzevii* ROM11 и *Candida tropicalis* BOM21 снижали содержание холестерина на 49,03–74,05% в течение 48 ч [23]. В исследовании 2013 г. 3 штамма лактобактерий *Lactobacillus acidophilus* La15, *Lactobacillus plantarum* B23 и *Lactobacillus kefir* D17, выделенные из тибетских кефирных зерен, показали потенциальную активность гидролазы солей желчной кислоты, способности к ассимиляции и копреципитации холестерина [24]. Была показана способность культуры *Pediococcus pentosaceus* CFR R123 из зерновых и бобовых традиционных ферментированных продуктов снижать содержание холестерина [25]. Были изучены эффекты закваски кимчи на основе *Leuconostoc kimchii* GJ2 на снижение уровня холестерина *in vitro* и у крыс, получавших диету с высоким содержанием жиров и высоким содержанием холестерина. Показан высокий уровень ассимиляции холестерина *in vitro* клетками *Leuconostoc kimchii* GJ2. При добавлении в рацион закваски кимчи у крыс значительно снижался уровень общего холестерина, триглицеридов и липополисахаридов низкой плотности в крови, печени и жировой ткани придатков яичек, а также индекс атерогенности и кардиальный фактор риска [26].

Данные литературы о снижении холестерина в основном относятся к стартовым культурам в составе кисломолочных и растительных продуктов. Публикаций по изучению потенциала стартовых культур и их композиций снижать холестерин в мясных изделиях не найдено, что еще раз подтверждает актуальность выбранного направления исследования.

Сведения об авторах

Клабукова Дарья Леонидовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела технологий и препаратов на основе культур клеток ОАО «Биохиммаш», Москва

E-mail: daria.klabukova@yandex.ru

Колотвина Светлана Викторовна – кандидат технических наук, менеджер отдела проектов ООО «Компания Хеликон» (Москва)

E-mail: kufiya@mail.ru

Титов Евгений Иванович – академик РАН, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой технологии и биотехнологии продуктов питания животного происхождения ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

E-mail: titovpb@bk.ru

Машенцева Наталья Геннадьевна – доктор технических наук, профессор РАН, заведующая кафедрой биотехнологии и технологии продуктов биоорганического синтеза ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств»

E-mail: natali-mng@yandex.ru

Заключение

Анализ собственных исследований и данных литературы позволил сделать вывод, что снижение холестерина *in vitro* стартовыми культурами является штаммоспецифическим признаком.

С учетом промышленно-ценных свойств стартовых культур, отсутствия антагонизма между штаммами, а также их способности редуцировать холестерин *in vitro* предложены 6 бактериальных композиций.

Выявлен синергетический эффект в редукации холестерина штаммами стартовых культур, объединенных в композицию, в питательной среде, содержащей добавленный холестерин (70 мг на 100 см³) в среднем на 16,5% по сравнению со штаммами в монокультуре. Снижение холестерина составило 25,0–45,7%.

Для производства сырокопченой колбасы выбрана композиция стартовых культур *Lactobacillus sakei* 105, *Pediococcus pentosaceus* 31 и *Staphylococcus xylosum* 45 с максимальной способностью снижать холестерин *in vitro* – 45,7±0,4%.

Полученные результаты показали возможность использования бактериальных композиций стартовых культур для снижения уровня холестерина в ферментированных мясных продуктах, в частности сырокопченых колбасах. Для опытного образца продукта с добавлением бактериальной композиции содержание холестерина снизилось на 21,4% по сравнению с контрольным, но в 2 раза меньше, чем *in vitro* в питательной среде.

Исследования выполнены
в рамках госконтракта № 40.2511.2014/К.

Литература

1. Millan J. Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention // *Vasc. Health Risk Manag.* 2009. Vol. 5. P. 757–765.
2. Barona J., Fernandez M.L. Dietary cholesterol affects plasma lipid levels, the intravascular processing of lipoproteins and reverse cholesterol transport without increasing the risk for heart disease // *Nutrients.* 2012. Vol. 4, N 8. P. 1015–1025.
3. Петухов В.А., Стернина Л.А., Травкин А.Е. Нарушения функций печени и дисбиоз при липидном дистресс-синдроме Савельева: современный взгляд на проблему // *Consilium Medicum.* 2004. Т. 6, № 6. С. 406–409.

4. Saarela M. et al. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties // *J. Biotechnol.* 2000. Vol. 84, N 3. P. 197–215.
5. Kumari A., Catanzaro R., Marotta F. Clinical importance of lactic acid bacteria: a short review // *Acta Biomed.* 2011. Vol. 82, N 3. P. 177–180.
6. Tulumoglu S., Kaya H.I., Simsek O. Probiotic characteristics of *Lactobacillus fermentum* strains isolated from Tulum cheese // *Anaerobe.* 2014. Vol. 30. P. 120–125.
7. Perez Chaia A., Strasser de Saad A.M., de Ruiz Holgado A.P., Oliver G. Short-chain fatty acids modulate growth of lactobacilli in mixed culture fermentations with propionibacteria // *Int. J. Food Microbiol.* 1995. Vol. 26, N 3. P. 365–374.
8. Baltova K., Dimitrov Z. Probiotic and cultural characteristic of strain *Lactobacillus gasserii* 4/13 of human origin // *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 2014. Vol. 28, N 6. P. 1084–1088.
9. Головин М.А., Ганина В.И., Машенцева Н.Г. Холестеринредуцирующие пробиотические бактерии в молочной продукции // *Мол. пром-сть.* 2014. № 5. С. 46–47.
10. Покровский А.А. Книга о вкусной и здоровой пище. 8-е изд., исправ. и доп. М.: Агропромиздат, 1988. 368 с.
11. Erkkila S. Bioprotective and probiotic meat starter cultures for the fermentation of dry sausages. Diss. Helsinki, 2001. 64 p.
12. Leroy F., Verluyten J., De Vuyst L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation // *Int. J. Food Microbiol.* 2006. Vol. 106, N 3. P. 270–285.
13. Машенцева Н.Г., Хорольский В.В. Функциональные стартовые культуры в мясной промышленности. М.: ДеЛи принт, 2008. 335 с.
14. Лисицын А.Б., Липатов Н.Н., Кудряшов Л.С., Алексахина В.А. Производство мясной продукции на основе биотехнологии / под общ. ред. Н.Н. Липатова. М.: ВНИИМП, 2005. 369 с.
15. Система предрегистрационного доклинического изучения безопасности препаратов. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов, используемых при производстве пробиотиков: методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. 60 с.
16. Zlatkis A., Zak B., Boyle A.J. A new method for the direct determination of serum cholesterol // *J. Lab. Clin. Med.* 1953. Vol. 41. P. 486–492.
17. Титов Е.И., Колотвина С.В., Машенцева Н.Г., Семёнышева А.И., Нгуен Т.М.К. Стартовые культуры, снижающие содержание холестерина, в мясных продуктах // *Мясная индустрия.* 2012. № 2. С. 22–25.
18. Messens W., Verluyten J., Leroy F., De Vuyst L. Modelling growth and bacteriocin production by *Lactobacillus curvatus* LTH 1174 in response to temperature and pH values used for European sausage fermentation processes // *Int. J. Food Microbiol.* 2003. Vol. 81, N 1. P. 41–52.
19. Payne M.J., Woods L.F.J., Gibbs P., Cammack R. Electron paramagnetic resonance spectroscopic investigation of the inhibition of the phosphoroclastic system of *Clostridium sporogenes* by nitrite // *J. Gen. Microbiol.* 1990. Vol. 136. 2067–2076.
20. Cammack R., Joannou C.L., Cui X.-Y., Martinez C.T., Maraj S.R., Hughes M.N. Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation // *Biochim. Biophys. Acta.* 1999. Vol. 1411, N 2–3. P. 475–488.
21. Azat R., Liu Y., Li W., Kayir A., Lin D.B., Zhou W.W. et al. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented Xinjiang cheese // *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2016. Vol. 17, N 8. P. 597–609.
22. Saavedra L., Taranto MP., Sesma F., de Valdez G.F. Homemade traditional cheeses for the isolation of probiotic *Enterococcus faecium* strains // *Int. J. Food Microbiol.* 2003. Vol. 88, N 2–3. P. 241–245.
23. Ogunremi O.R., Sanni A.I., Agrawal R. Probiotic potentials of yeasts isolated from some cereal-based Nigerian traditional fermented food products // *J. Appl. Microbiol.* 2015. Vol. 119, N 3. P. 797–808.
24. Zheng Y., Lu Y., Wang J., Yang L., Pan C., Huang Y. Probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from Tibetan kefir grains // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, N 7. Article ID e69868.
25. Raghavendra P., Rao T.S., Halami P.M. Evaluation of beneficial attributes for phytate-degrading *Pediococcus pentosaceus* CFR R123 // *Benef. Microbes.* 2010. Vol. 1, N 3. P. 259–264.
26. Jo S.Y., Choi E.A., Lee J.J., Chang H.C. Characterization of starter kimchi fermented with *Leuconostock kimchii* GJ2 and its cholesterol-lowering effects in rats fed a high-fat and high-cholesterol diet // *J. Sci. Food Agric.* 2015. Vol. 95, N 13. P. 2750–2756.

References

1. Millan J. Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. *Vasc Health Risk Manag.* 2009; 5: 757–65.
2. Barona J., Fernandez M.L. Dietary cholesterol affects plasma lipid levels, the intravascular processing of lipoproteins and reverse cholesterol transport without increasing the risk for heart disease. *Nutrients.* 2012; 4 (8): 1015–25.
3. Pokrovsky A.A. Book about tasty and healthy food. 8th ed., revised and enlarged. Moscow: Agropromizdat, 1988: 368 p. (in Russian)
4. Saarela M., et al. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol.* 2000; 84 (3): 197–215.
5. Kumari A., Catanzaro R., Marotta F. Clinical importance of lactic acid bacteria: a short review. *Acta Biomed.* 2011; 82 (3): 177–80.
6. Tulumoglu S., Kaya H.I., Simsek O. Probiotic characteristics of *Lactobacillus fermentum* strains isolated from Tulum cheese. *Anaerobe.* 2014; 30: 120–5.
7. Perez Chaia A., Strasser de Saad A.M., de Ruiz Holgado A.P., Oliver G. Short-chain fatty acids modulate growth of lactobacilli in mixed culture fermentations with propionibacteria. *Int J Food Microbiol.* 1995; 26 (3): 365–74.
8. Baltova K., Dimitrov Z. Probiotic and cultural characteristic of strain *Lactobacillus gasserii* 4/13 of human origin. *Biotechnol Biotechnol Equip.* 2014; 28 (6): 1084–8.
9. Golovin M.A., Ganiina V.I., Mashentseva N.G. Cholesterol-reducing probiotic bacteria in dairy products. *Molochnaya promyshlennost' [Dairy Industry].* 2014; (5): 46–7. (in Russian)
10. Pokrovsky A.A. Book about tasty and healthy food. 8th ed., revised and enlarged. Moscow: Agropromizdat, 1988: 368 p. (in Russian)
11. Erkkila S. Bioprotective and probiotic meat starter cultures for the fermentation of dry sausages. Diss. Helsinki: 2001: 64 p.
12. Leroy F., Verluyten J., De Vuyst L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *Int J Food Microbiol.* 2006; 106 (3): 270–85.
13. Mashentseva N.G., Khorolsky V.V. Functional starter culture in the meat industry. Moscow: DeLi print, 2008: 335 p. (in Russian)
14. Lisitsyn A.B., Lipatov N.N., Kudryashov L.S., Aleksakhina V.A. Production of meat products based on biotechnology. Moscow: VNIIMP, 2005: 369 p. (in Russian)
15. The pre-registration system pre-clinical study safety of drugs. Selection, validation and storage of industrial strains used for production of probiotics: guidelines. Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадзор, 2010: 60 p. (in Russian)
16. Zlatkis A., Zak B., Boyle A.J. A new method for the direct determination of serum cholesterol. *J Lab Clin Med.* 1953; 41: 486–92.
17. Titov E.I., Kolotvina C.V., Mashentseva N.G., Semenycheva A.I., Nguyen T.M.K. Starter culture, which reduces the content of cholesterol in meat products. *M'asnaya industriya [Meat Industry].* 2012; (2): 22–5. (in Russian)
18. Messens W., Verluyten J., Leroy F., De Vuyst L. Modelling growth and bacteriocin production by *Lactobacillus curvatus* LTH 1174 in response to temperature and pH values used for European sausage fermentation processes. *Int J Food Microbiol.* 2003; 81 (1): 41–52.
19. Payne M.J., Woods L.F.J., Gibbs P., Cammack R. Electron paramagnetic resonance spectroscopic investigation of the inhibition of the phosphoroclastic system of *Clostridium sporogenes* by nitrite. *J Gen Microbiol.* 1990; 136: 2067–76.

20. Cammack R., Joannou C.L., Cui X.-Y., Martinez C.T., Maraj S.R., Hughes M.N. Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. *Biochim Biophys Acta*. 1999; 1411 (2–3): 475–88.
21. Azat R., Liu Y., Li W., Kayir A., Lin D.B., Zhou W.W., et al. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented Xinjiang cheese. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2016; 17 (8): 597–609.
22. Saavedra L., Taranto MP., Sesma F., de Valdez G.F. Homemade traditional cheeses for the isolation of probiotic *Enterococcus faecium* strains. *Int J Food Microbiol*. 2003; 88 (2–3): 241–5.
23. Ogunremi O.R., Sanni A.I., Agrawal R. Probiotic potentials of yeasts isolated from some cereal-based Nigerian traditional fermented food products. *J Appl Microbiol*. 2015; 119 (3): 797–808.
24. Zheng Y., Lu Y., Wang J., Yang L., Pan C., Huang Y. Probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from Tibetan kefir grains. *PLoS One*. 2013; 8 (7): Article ID e69868.
25. Raghavendra P., Rao T.S., Halami P.M. Evaluation of beneficial attributes for phytate-degrading *Pediococcus pentosaceus* CFR R123. *Benef Microbes*. 2010; 1 (3): 259–64.
26. Jo S.Y., Choi E.A., Lee J.J., Chang H.C. Characterization of starter kimchi fermented with *Leuconostock kimchii* GJ2 and its cholesterol-lowering effects in rats fed a high-fat and high-cholesterol diet. *J Sci Food Agric*. 2015; 95 (13): 2750–6.

Для корреспонденции

Скидан Игорь Николаевич – кандидат медицинских наук,
руководитель научного отдела ООО «Бибиколь Рус»
Адрес: 141006, г. Мытищи, Олимпийский проспект, вл. 29, стр. 2
Телефон: (495) 926-06-26, доб. 231
E-mail: med_adviser@bibicall.ru

Скидан И.Н.¹, Пырьева Е.А.², Конь И.Я.²

Развитие индустрии смесей заменителей грудного молока

Development of the infant
formula industry

Skidan I.N.¹, Pyrieva E.A.², Kon' I.Ya.²

¹ ООО «Бибиколь Рус», Московская область, Мытищи

² ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва

¹ Bibicall Rus Ltd., Moscow Region, Mytichshi

² Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
Moscow

С созданием первых прототипов современных заменителей грудного молока (ЗГМ) в конце XIX в. человечество вступило в новую эру по вопросам вскармливания детей первого года жизни. В настоящее время при организации искусственного вскармливания новорожденных используют адаптированные молочные смеси, изготовленные с применением новейших технологий производства. В данном обзоре кратко рассмотрена история развития и классификация ЗГМ, приведены основные отечественные и зарубежные документы, регламентирующие их состав, а также основные принципы приближения (адаптации) формул к грудному молоку. Очевидно, что данные вопросы являются ключевыми в понимании специфики и правильного определения перспектив и направлений развития индустрии ЗГМ.

Ключевые слова: новорожденный, заменители грудного молока, адаптация смесей

The creation of the first prototypes of modern breastmilk substitutes at the end of the nineteenth century brought in a new era in feeding infants in the first year of life. Currently, artificial feeding of newborns consists of adapted milk formulae made with the latest production technologies. This review briefly discusses the history of the development and classification of breastmilk substitutes, the main local and international documents regulating their composition, as well as the basic principles of approximation (adaptation) of formulae to breast milk. Obviously, these issues are key in understanding the specifics and correct definition of the prospects and directions for the development of the breastmilk substitute industry.

Keywords: newborn, breast milk substitutes, formula adaptation

Для цитирования: Скидан И.Н., Пырьева Е.А., Конь И.Я. Развитие индустрии смесей заменителей грудного молока // Вopr. питания. 2017. Т. 86. № 5. С. 91–98.

Статья поступила в редакцию 15.08.2017. **Принята в печать** 08.09.2017.

For citation: Skidan I.N., Pyrieva E.A., Kon' I.Ya. Development of the infant formula industry. Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]. 2017; 86 (5): 91–8. (in Russian)

Received 15.08.2017. **Accepted for publication** 08.09.2017.

Пионерами современной индустрии детского питания по праву считаются немецкий химик Ю. фон Либих (J.F. von Liebig), американский изобретатель Г. Борден (G. Borden), швейцарский коммерсант, химик и изобретатель Г. Нестле (H. Nestle), английский пищевой химик Г. Миллин (G. Mellin), американский предприниматель, создатель целого ряда новых классов пищевых продуктов Д. Хорлик (J. Horlick) и др. Именно ими были созданы первые прототипы современных рецептур безмолочных и молочных смесей для искусственного вскармливания (ИВ): «Liebig's formula» (Ю. фон Либих), «Borden's Food» (Г. Борден), «Nestle's Infant Food» (Г. Нестле), «Mellin's Food» (Г. Миллин), «Horlick» (Д. Хорлик) [1]. Уже к 1883 г. были разработаны и запатентованы 27 брендов детских смесей для ИВ [2]. Почти одновременно с этим стали выпускать и средства для организации ИВ (соски, бутылочки для кормления) [3, 4].

На рубеже XIX–XX вв. одной из популярных основ для детских формул было цельное коровье молоко или сливки с добавлением небольшого количества «известкового молока»¹, коричневого сахара и кипяченой воды. Даже ранние смеси для вскармливания новорожденных имели определенные преимущества перед нативным молоком сельскохозяйственных животных. Так, при производстве детских формул учитывали требования к сбалансированному составу и микробиологической безопасности, обеспечивающей возможность их более длительного хранения. В первой половине XX в. было установлено оптимальное соотношение между белками, жирами и углеводами в смесях, а затем стали учитывать энергетическую плотность и количество белка. При этом до середины XX в. состав заменителей грудного молока (ЗГМ) значительно варьировал. Энергетическая ценность смесей колебалась в диапазоне от <50 до >80 ккал/100 мл, содержание белка – от 3,3 до 4,0 г/100 ккал (в некоторых формулах до 6,7 г/100 ккал) [5, 6].

Достижения в сфере промышленной переработки молока с целью получения его в сухом виде, а также существенный рост потребительского спроса предопределили рост массового производства ЗГМ. С окончанием Второй мировой войны началось развитие рынков, рост продаж ЗГМ был связан как с экономическими, так и с социальными особенностями, а именно феноменом роста рождаемости в конце 1940-х – начале 1950-х гг., известного в западной историографии как беби-бум. Параллельно развивалась рекламная индустрия ЗГМ, функционировавшая сначала стихийно и агрессивно. На волне движения за гражданские права и либерализацию общественных отношений в 1960-е гг. детская бутылочка стала приравниваться к символу свободной женщины [7]. В общемировом масштабе с появлением ЗГМ детей стали чаще переводить на ИВ. Так, во многих странах показатель естественного вскармливания упал с более чем 70% в 1930-е гг. до 14% в 1970-е [8]. Тем не

менее на протяжении всего XX в. в индустриально развитых странах грудное вскармливание (ГВ) продолжало считаться идеальной формой питания новорожденного. В медицинском сообществе активно обсуждалась лишь оптимальная длительность периода вскармливания ребенка грудным молоком. Если в 1920-е гг. исключительно ГВ было рекомендовано в течение первых 9 мес, то к 1950-м гг. оптимальным считался срок до 3 мес [9].

Некоторые особенности стоит отметить, говоря об истории вскармливания детей в СССР и, в частности, популяризации ГВ. В 1920-е гг. институт семьи стал считаться буржуазным пережитком и государство делегировало себе часть забот по воспитанию детей с их самого раннего возраста, широко развивая сеть детских учреждений. С середины 1930-х гг. советское государство делает ставку на институт семьи, популяризацию образа женщины-матери и кормилицы. В СССР выходят многомиллионными тиражами руководства, брошюры, санитарно-просветительные листы для советских мам, а поддержка ГВ подкрепляется массовым изданием агитационных плакатов и поздравительных открыток (рис. 1, А и Б, см. оборот вклейки).

В научной литературе приводятся сведения о широкой распространенности естественного вскармливания в СССР (более 90%) в 1930–1940-х гг. и от 60 до 75% (в зависимости от возраста ребенка) – в 1960-х [10]. Однако уже с начала 1970-х гг. ситуация меняется. В течение нескольких десятилетий количество детей на естественном вскармливании в возрасте от 3 до 12 мес стремительно сокращается. К сожалению, последние годы этот показатель по-прежнему стабильно низкий, составляет примерно 40%.

До начала промышленного производства адаптированных ЗГМ в СССР изготавливались неадаптированные и частично адаптированные молочные смеси, в основном на молочных кухнях. Основу таких смесей составляло коровье молоко, разведенное отварами различных круп или муки с добавлением сахара. Первые крупные заводы по выпуску смесей для ИВ были построены в СССР с 1970-х по 1980-е гг. В СССР в 1970-х гг. был начат выпуск первых отечественных ЗГМ: «Малютка» – для детей первых месяцев жизни и «Малыш» – от 1 мес до года. Рецептуры и технологии производства данных смесей были разработаны учеными и специалистами Института питания АМН СССР (в настоящее время – ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»), Москва. Отечественной промышленностью начали выпускаться детские смеси как в жидком, так и в сухом виде: «Малютка», «Малыш», «Виталакт», «Детолакт», «Балбобек», «Ладушка», «Новолакт», «Крошечка» и др. [10].

Стоит отметить, что большой вклад в изучение и популяризацию ГВ, а также в создание теоретической и практической основы применения ЗГМ как для здоровых, так и для больных детей внесли такие выдающиеся

¹ Суспензия, образованная при смешивании избытка гашеной извести с водой.

советские, российские ученые, как Г.Н. Сперанский (1873–1969), О.Д. Соколова-Пономарева (1888–1966), А.Ф. Тур (1894–1974), В.А. Таболин (1926–2007), И.М. Воронцов (1935–2007), Н.П. Шабалов, Е.М. Фатеева и др.

В 1930-е гг. в США были предприняты первые попытки на законодательном уровне ограничить рекламу ИВ рамками профессионального сообщества (документ «*The Work of the Committee on Foods*») [11, 12]. Компании-изготовители стали все чаще испытывать давление активистов неправительственных организаций, проводивших мероприятия по формированию негативного имиджа ЗГМ на рынке при поддержке медицинского сообщества. Считается, что первое сообщение под названием «*Milk and Murder*» («Молоко-убийца») о возможном негативном влиянии ЗГМ на здоровье детей, вызвавшее мировой общественный резонанс, было сделано в 1939 г. ямайским педиатром С. Уильямс (*Cicely Williams*) (рис. 2, см. оборот вклейки) [13]. Примечательно, что в дальнейшем С. Уильямс сыграла важную роль в становлении и развитии системы охраны здоровья матери и ребенка в развивающихся странах, а в 1948 г. стала первым директором по вопросам здоровья матери и ребенка во Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ).

С целью защиты и популяризации ГВ посредством контроля за рекламой и необузданным распространением ЗГМ в 1980 г. в Женеве (Швейцария) была принята соответствующая резолюция Всемирной ассамблеи здравоохранения и Исполнительного комитета (WHA27.43) [14], а уже через год был принят свод правил – Международный кодекс ВОЗ по сбыту ЗГМ [15]. Производителей детских формул фактически обязали использовать слоган «*грудное молоко – лучшее питание для младенца*» с указанием, что смесь следует использовать только в случае невозможности ГВ.

До настоящего времени ситуация с ГВ далека от идеальной. Например, в 2016 г. в целом по Российской Федерации количество детей на ГВ в возрасте от 3 до 12 мес составляло чуть больше 40%. Согласно информации Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (*Food and Drug Administration, FDA*), в настоящее время примерно 1 млн детей в США получают формулы с рождения, а к 3-му месяцу жизни 2,7 млн детей находятся на искусственном или смешанном вскармливании [16].

Знаковым для регулирования состава ЗГМ является принятие в США в 1980 г. *Закона о детской формуле* [17]. Поводом послужил инцидент, произошедший двумя годами ранее, когда в 1978 г. крупнейший на тот момент производитель детских формул при изменении рецептур двух своих продуктов отказался от добавления *хлорида натрия*. Последствиями этого стал значительный рост числа случаев гипохлоремического метаболического алкалоза.

В Российской Федерации основным документом, регламентирующим состав ЗГМ, является Технический регламент Таможенного союза «*О безопасности молока и молочной продукции*» (ТР ТС 033/2013), разработанный в соответствии с соглашением о единых принципах и правилах технического регулирования в Республике Беларусь, Республике Казахстан и Российской Федерации от 18.11.2010 [18]. Наиболее известными документами, регламентирующими ЗГМ за пределами Таможенного союза, являются документ 2016/127 от 25.09.2015, дополняющий регламент ЕС № 609/2013, а также заключение Европейской организации по безопасности пищевых продуктов, документ EFSA, 2014 «*Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae*» (Европейский союз) [19, 20]. Существует общепринятый рецептурный ориентир для ЗГМ, рекомендованный международной комиссией *Codex Alimentarius Commission & Commission directive*², известный как *Codex Standard for Infant Formula* (CODEX STAN 72-1981) [21]. В соответствии с ним детская формула должна обеспечивать адекватную нутритивную поддержку ребенка, иные преимущества, а также максимально возможную безопасность. При этом безопасность и пищевая адекватность ЗГМ должна быть научно обоснована.

Развитие современной науки о питании диктует необходимость поиска новых возможностей для адаптации состава ЗГМ к женскому молоку. В последние десятилетия существенно увеличился перечень таких компонентов: остеопонтин, α -лактальбумин, лактоферрин, лютеин, лиофилизат мембран жировых глобул молока или их отдельные компоненты, карнитин, холин, инозит, сиаловые кислоты, пробиотические штаммы бактерий, олигосахариды (галактоолигосахариды, фруктоолигосахариды), синтетическая версия 2'-фукозиллактозы (2'-FL) – природного олигосахариды, наиболее широко представленного в женском молоке [22–24]. С учетом трудностей в организации клинических исследований с участием грудных детей, декларируемые позитивные эффекты отдельных компонентов трудно доказуемы. Следует отметить, что в CODEX STAN 72-1981 отсутствуют четкие критерии уровня адаптации детских формул к ГМ, что представляется вполне логичным. В международных стандартах не используются такие определения ЗГМ, как «адаптированные формулы», «частично адаптированные формулы» и др. [19–21, 25–27]. В процессе адаптации рецептур ЗГМ к женскому молоку важно использование комплексного подхода, а не отдельного технологического этапа.

В попытках приближения рецептуры ЗГМ к оптимальной белковой композиции грудного молока в 1962 г. в США была разработана первая в мире формула на основе коровьего молока с преобладанием сывороточных белков. Это стало возможно благодаря технологии получения изолированной молочной сыворотки. В ранних

² Международная комиссия является частью двух больших международных организаций – Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН и ВОЗ.

Таблица 1. Основные вехи в истории развития заменителей грудного молока

Годы	Основные этапы
1867	Ю. фон Либих: первая коммерческая формула содержала пшеничную муку, сухое коровье молоко, солодовую муку и гидрокарбонат калия
1915	Формула содержала сухое коровье молоко, лактозу, растительные масла
1920	Рекомендация: добавлять в искусственное питание фруктовый сок (чаще апельсиновый) и рыбий жир. Наметилась тенденция к началу введения продуктов и блюд прикорма
1929	Первая коммерческая формула на основе сои для детей-аллергиков (на основе соевой муки, не гидролизат белков)
1935	Определена норма содержания белка в формуле
1940-е	Гипоаллергенные формулы на основе гидролиза белков коровьего молока
1951	Формула в виде жидкого концентрата
1959	Добавление в рецептуру формул железа
1960-е	Изучение нагрузки формул на канальцевый аппарат почек (фокус на осмоляльность в адаптированных смесях для искусственного вскармливания)
1960-е	Формулы в жидком виде с более низким содержанием белка, добавлением витаминов, растительных масел
1962	Приведение сывороточных белков и казеинов в формулах к соотношению 60:40 по аналогии с женским молоком. Выпуск первых таких формул в США
Середина 1960-х	Формулы на основе изолята соевого белка
1984	Добавление в рецептуру формул таурина
1988	Адаптированная формула на основе козьего молока (Новая Зеландия)
Конец 1990-х	Добавление в рецептуру формул нуклеотидов
1994	Формула, предназначенная для недоношенных детей после выписки из больницы
Начало 2000-х	Добавление в рецептуру формул эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот
Начало 2000-х	Добавление в рецептуру формул пребиотиков фруктоолигосахаридов и галактоолигосахаридов и пробиотиков (<i>Bifidobacterium lactis</i> , <i>B. lactis</i> в комбинации с <i>Streptococcus thermophilus</i> и др.)
2006	Первый крупный бренд, выпустивший органическую детскую смесь
2010-е	Добавление в рецептуру формул синтетической версии 2'-фукозиллактозы (2'-FL) – природного олигосахарида, наиболее широко представленного в женском молоке

* – Адаптировано по [5, 36].

работах установлено, что формулы на коровьем молоке с преобладанием белков молочной сыворотки образуют в желудке ребенка более мягкий и легко усвояемый сгусток [28]. Однако на сегодняшний день стало очевидно, что для создания идеального адаптированного ЗГМ недостаточно только изменить соотношение основных белков молока, приблизив их состав к «золотому стандарту» грудного молока [23, 29]. Использование формул на основе сывороточных белков недостаточно для формирования профиля аминокислот в плазме крови ребенка, идентичного женскому молоку, не тождественна и скорость опорожнения желудка [30–34]. Отдаленные долгосрочные преимущества для здоровья вскармливания смесями на основе сывороточных белков в литературе не представлены. Вероятно, по этой причине в регламентирующих документах (CODEX STAN 72-1981, регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2013, регламент Европейского союза 2016/127 или американские рекомендации 21 CFR 107.100) приводятся только источники белка, допустимые уровни общего белка и содержание определенных аминокислот в составе смесей, без указания количества или соотношения основных групп молочных белков³.

Анализ научно-медицинской литературы позволил проследить основные преобразования ЗГМ, которые происходили в мире с конца XIX в. по настоящее время. В табл. 1 представлена хронология истории развития формул для ИВ новорожденных [5, 35].

В настоящее время на мировом рынке ЗГМ доминируют сухие молочные смеси, в рецептурах которых чаще всего используют сухое обезжиренное или частично обезжиренное молоко, деминерализованную или частично деминерализованную молочную сыворотку, концентраты сывороточных белков, т.е. отдельные компоненты молока (рис. 3). Чаще всего в качестве молочной основы ЗГМ применяется коровье молоко. Такой выбор прежде всего обусловлен, широкой доступностью и экономической целесообразностью, но не особыми преимуществами его физико-химических или биологических свойств.

На сегодняшний день в нашей стране общепринятой является классификация ЗГМ для здоровых детей, приведенная в руководстве для врачей «Детское питание» под редакцией В.А. Тутельяна и И.Я. Коня [36]. Вид и качество исходного сырья (в том числе молочного), а также технология переработки и приготовления ЗГМ

³ В регламенте ТР ТС 033/2013 указывается на процент сывороточных белков в смесях, основанных на белках молочной сыворотки (т.е. не менее 50%), но исключаются из нормирования адаптированные казеиндоминирующие смеси.

существенно влияют на конечные характеристики продукта. Именно это служит поводом продолжающегося поиска пищевой и биологически активной (функциональной) основы для детских адаптированных смесей. Одно из направлений – создание смесей на основе козьего молока [29, 36–38]. В ряде случаев использование козьего молока позволяет обходиться меньшим количеством дополнительно вносимых ингредиентов для адаптации [39].

Сопоставление отечественных и международных стандартов содержания пищевых веществ и энергетической ценности в ЗГМ для искусственного вскармливания здоровых детей представлено в табл. 2. Следует отметить, что совершенствование стандартов идет непрерывно. Возможными ингредиентами будущих ЗГМ могут служить различные функциональные, биологически активные компоненты, в частности функциональные белки, пептиды, цитокины, гормоны, пробиотики, жиры, включая холестерин и мембраны глобул молочного жира. Эксперты пищевой индустрии прогнозируют, что ЗГМ будут самым быстрорастущим сегментом упакованной пищевой продукции в ближайшие 5–10 лет. Ожидается существенное увеличение текущего объема мирового рынка (~50 млрд долларов) продуктов питания для детей раннего возраста и, соответственно, ежегодный сред-

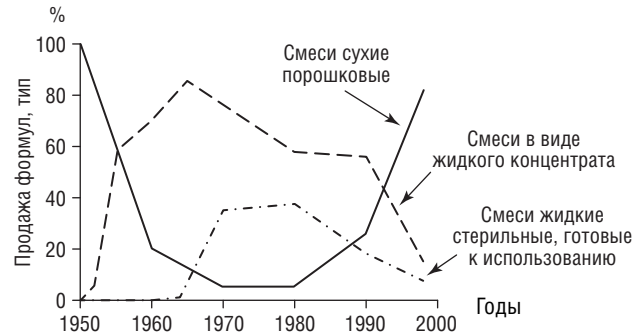


Рис. 3. Соотношение объема продаж различных типов формул с 1950 по 1998 г.: смеси сухие порошкообразные, смеси в виде жидкого концентрата (133 ккал/100 мл) и смеси жидкие стерильные, готовые к использованию (67 ккал/100 мл) [5]

немировой темп прироста не менее 7% в год или даже выше. К 2019 г. ожидается увеличение объема продаж ЗГМ до 70,6 млрд долларов [40–43].

В заключение следует отметить, что материнское молоко – оптимальный источник питания для ребенка первого года жизни, и развитие индустрии производства детских молочных формул идет параллельно с совершенствованием системы поддержки ГВ, созданием соответствующих целевых программ.

Таблица 2. Физико-химические показатели идентификации заменителей грудного молока на основе отечественных и международных стандартов

Ингредиенты	Отечественные* и международные** стандарты содержания пищевых веществ и энергии							
	CODEX STAN 72-1981 (правки: 1983, 1985, 1987, 2011, 2015, 2016)		Регламент Таможенного союза, ТР ТС 033/2013		Директива Европейского союза, 2016/127 ¹		Документ FDA, 21 CFR 107.100 (США)	
	мин.	макс.	мин.	макс.	мин.	макс.	мин.	макс.
Белки, г	1,8	3,0	1,2	1,7	1,8	2,5	1,8	4,5
Жиры, г	4,4	6,0	3,0	4,0	4,4	6,0	3,3	6,0
В том числе жирные кислоты:								
линолевая, мг	300	–	400	800	500	1200	300,0	–
α-линоленовая, мг	50	–	–	–	50	100	–	–
докозагексаеновая, мг	–	–	–	–	20	50	–	–
фосфолипиды, г/л	–	300,0 мг/ 100 ккал	–	–	–	2,0	–	–
Углеводы, г	9,0	14,0	6,5	8,0	9,0	14,0	–	–
В том числе:								
лактоза, г	–	–	>65%	–	4,5	–	–	–
фруктоолигосахариды и галактоолигосахариды, г/100 мл	–	–	–	–	–	0,8	–	–
Витамины								
А (ретинол), мкг РЭ	60,0	180,0	40,0	100,0	70,0	114,0	75,0	225,0
Д (кальциферол), мкг	1,0	2,5	0,75	1,25	2,0	3,0	1,0	2,5
Е (токоферол), мг	0,5	–	0,4	1,2	0,6	5,0	0,7	–
К (филлохинон), мкг	4,0	–	2,5	10,0	1,0	25,0	4,0	–
В ₁ (тиамин), мкг	60	–	40	210	40	300	40	–
В ₂ (рибофлавин), мкг	80	–	50	280	60	400	60	–
В ₆ (пиридоксин), мкг	35	–	30	100	20	175	35	–
В ₃ (пантотеновая кислота), мг	0,4	–	0,27	0,4	0,4	2,0	0,3	–
В ₁₂ (цианкобаламин), мкг	0,1	–	0,1	0,3	0,1	0,5	0,15	–
В _с (фолиевая кислота), мкг	10,0	–	6,0	35,0	15,0	47,6	4,0	–

Ингредиенты	Отечественные* и международные** стандарты содержания пищевых веществ и энергии							
	CODEX STAN 72-1981 (правки: 1983, 1985, 1987, 2011, 2015, 2016)		Регламент Таможенного союза, ТР ТС 033/2013		Директива Европейского союза, 2016/127 ¹		Документ FDA, 21 CFR 107.100 (США)	
	мин.	макс.	мин.	макс.	мин.	макс.	мин.	макс.
С (аскорбиновая кислота), мг	10,0	–	5,5	15,0	4,0	30,0	8,0	–
Н (биотин), мкг	1,5	–	1,0	4,0	1,0	7,5	1,5 ²	–
РР (ниацин), мг	0,3	–	0,2	1,0	0,4	1,5	0,25	–
<i>Минеральные вещества</i>								
Натрий, мг	20	60	15	30	25	60	20	60
Калий, мг	60	180	40	85	80	160	80	200
Кальций, мг	50	–	33	70	50	140	60	–
Фосфор, мг	25,0	–	15	40	25	90	30	–
Соотношение кальция и фосфора	1:1	2:1	1,2:1	2:1	1:1	2:1	1:1	2:1
Хлориды, мг	50	160	30	80	60	160	55	150
Магний, мг	5	–	3	9	5	15	6	–
Железо, мг	0,45	–	0,3	0,9	0,3	1,3	0,15	3,0
Цинк, мг	0,5	–	0,3	1,0	0,5	1,0	0,5	–
Медь, мкг	35,0	–	30,0	60,0	60,0	100,0	60,0	–
Йод, мкг	10	–	5	15	15	29	5	75
Селен, мкг	1,0	–	1,0	4,0	3,0	8,6	2,0	7,0
Марганец, мкг	1,0	–	1,0	3,0	1,0	100,0	5,0	–
Молибден, мкг	1,5	–	Не определен		–	14,0	Не определен	
Хром, мкг	1,5	–	Не определен		Не определен		Не определен	
Фторид, мкг	–	100	Не определен		–	100	Не определен	
<i>Другие компоненты</i>								
L-Карнитин, мг	1,2	–	–	2,0	1,2	–	Не определен	
Таурин, мг	–	12	–	8	–	12	Не определен	
Холин, мг	7	–	5	35	25	50	7 ²	–
Инозит, мг	4	–	2	28	4	40	4 ²	–
Лютеин, мкг	Не определен		–	25	Не определен		Не определен	
<i>Нуклеотиды, мг</i>			–	3,5	–	5		
В том числе:					0,6	2,5		
цитидин-5-монофосфат,					0,42	1,75		
уридин-5-монофосфат,					0,36	1,5		
аденозин-5-монофосфат,					0,12	0,5		
гуанозин-5-монофосфат,					0,24	1,0		
инозин-5-монофосфат, мг							Не определены	
<i>Энергетическая ценность, ккал</i>	60,0	70,0	Не указана		60,0	70,0	Не указана	

П р и м е ч а н и е. * – из расчета на 100 мл готовой к употреблению смеси; ** – из расчета на 100 ккал готовой к употреблению смеси; ¹ – детские начальные и последующие формулы регулируются в соответствии с базовой Директивой 2009/39/ЕС10 и ее исполнительной директивой 2006/141/ЕС11 2016/127 на основе серии докладов Научного комитета по продовольствию (SCF, 1983, 1989, 1991, 1993а, 1995, 2003b) и панели EFSA (EFSA, 2005f, EFSA NDA Panel, 2012a); ² – требуется только для безмолочных формул.

Сведения об авторах

Скидан Игорь Николаевич – кандидат медицинских наук, руководитель научного отдела компании ООО «Бибиколл Рус» (Московская область, Мытищи)

E-mail: med_adviser@bibicall.ru

Пырьева Екатерина Анатольевна – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая лабораторией возрастной нутрициологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва)

E-mail: epyrjeva@mail.ru

Конь Игорь Яковлевич – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории возрастной нутрициологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва)

E-mail: kon@ion.ru

Литература

- Скидан И.Н., Гуляев А.Е., Зеленкин И.В. и др. Исторический экскурс в проблематику вскармливания детей // *Вопр. питания*. 2014. Т. 83. № 2. С. 68–78.
- Bracken F.J. Infant feeding in the American colonies // *J. Am. Diet. Assoc.* 1953. Vol. 29. P. 349–358.
- Зеленкин И.В., Скидан И.Н. Развитие приспособлений для кормления новорожденных: исторический экскурс // *Рос. вест. перинатол. и педиатр.* 2016. № 1. С. 126–134.
- Castilho S.D., Barros Filho A.A. The history of infant nutrition // *J. Pediatr. (Rio J.)*. 2010. Vol. 86, N 3. P. 179–188.
- Fomon S. Infant feeding in the 20th century: formula and beikost // *J. Nutr.* 2001. Vol. 131. P. 409–420.
- The American Pediatric Society's collective investigation of infantile scurvy in North America // *Arch. Pediatr.* 1898. Vol. 15. P. 481–500.
- Foss K.A. Perpetuating "scientific motherhood": infant feeding discourse in *Parents Magazine*, 1930–2007 // *Women Health*. 2010. Vol. 50, № 3. P. 297–311.
- Jelliffe D., Jelliffe E. Feeding young infants in developing countries: comments on the current situation and future needs // *Stud. Fam. Plann.* 1978. Vol. 11. P. 72–75.
- Nathoo T., Ostry A.S. "The One Best Way"? Breastfeeding History, Politics, and Policy in Canada from the 19th–21st Century. *Studies in Childhood and Family in Canada Series*. Waterloo: Wilfrid Laurier University Press, 2009. 260 p.
- Питание детей в домах ребенка : методические рекомендации, утв. Минздравом СССР 02.06.1985 № 11-14/26-6.
- Hertwig R. The work of the Committee on Foods. The protection of the consumer of food and drugs // *A Symposium Law and Contemporary Problems*. 1933. Vol. 1, N 1. P. 55–60.
- Obladen M. Historic records on the commercial production of infant formula // *Neonatology*. 2014. Vol. 106, N 3. P. 173–180.
- http://archive.wphna.org/wp-content/uploads/2014/03/1939_Cicely_Williams_Milk_and_murder.pdf
- Сборник резолюций и решений Всемирной ассамблеи здравоохранения и Исполнительного комитета. 3-е изд. Женева, 1980. Т. 2, 48 с.
- Международный свод правил по сбыту заменителей грудного молока. Женева: Всемирная организация здравоохранения, 1981, 38с. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40382/2/9241541601_rus.pdf
- <https://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm048694.htm>
- <https://www.govtrack.us/congress/bills/96/hr6940>
- Технический Регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013). <http://24.rosпотреbnadzor.ru/links/NormMetodObesp/TehRegTS/>
- Commission delegated regulation (EU) 2016/127. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32016R0127>
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies, 2014. Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae // *EFSA*. 2014. Vol. 12, N 7. P. 3760.
- Codex Alimentarius Commission. Standard for Infant Formula and Formulas for Special Medical Purposes Intended for Infants. CODEX STAN 72–1981. (Formerly CAC/RS 72–1972. Adopted as a world-wide Standard 1981. Amended 1983, 1985, 1987. Revision 2007. Amended 2011, 2015, 2016). <http://www.codexalimentarius.org>
- Hernell O. Human milk vs. cow's milk and the evolution of infant formulas // *Nestle Nutr. Workshop Ser. Pediatr. Program*. 2011. Vol. 67. P. 17–28.
- Скидан И.Н., Пырьева Е.А., Конь И.Я. Белки грудного молока как целевой ориентир для совершенствования рецептур детских адаптированных молочных смесей // *Вопр. питания*. 2017. Т. 86, № 4. С. 130–142.
- Конь И.Я., Коновалова Л.С., Абрамова Т.В. Современные представления о составе адаптированных молочных смесей и перспективах их совершенствования // *Леч. врач*. 2011. № 8. С. 28–30.
- Infant Formula Guidance Documents & Regulatory Information – FDA <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/InfantFormula/default.htm>
- Food Standards Australia New Zealand. <http://www.foodstandards.gov.au/Pages/default.aspx>
- Guidice C. Harmonisation: Mercosur gets to work on nutrition claims. *EAS Strateg Advice: Europe*. 2012. http://www.eas.eu/News_Item/921 или <http://resources.selerant.com/food-regulatory-news/blog/mercotur-food-law>
- Fomon S.J. *Nutrition of normal infants*. Mosby, St. Louis, Mo; 1993. P. 395–408.
- Проссер К. Состав детских формул на основе козьего молока, результаты клинической эффективности и безопасности их применения у детей // *Рос. вест. перинатол. и педиатр.* 2013. Т. 58. № 5 15–22.
- Picone T.A., Benson J.D., Moro G. et al. Growth, serum biochemistries, and amino acids of term infants fed formulas with amino acid and protein concentrations similar to human milk // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1989. Vol. 9, N 3. P. 351–360.
- Zhou S.J., Sullivan T., Gibson R.A. et al. Nutritional adequacy of goat milk infant formulas for term infants: a double-blind randomised controlled trial // *Br. J. Nutr.* 2014. Vol. 111. P. 1641–1651.
- van den Driessche M., Peeters K., Marien P. et al. Gastric emptying in formula-fed and breast-fed infants measured with the ¹³C-octanoic acid breath test // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1999. Vol. 29. P. 46–51.
- Billeaud C., Guillet J., Sandler B. Gastric emptying in infants with or without gastro-oesophageal reflux according to the type of milk // *Eur. J. Clin. Nutr.* 1990. Vol. 44, N 8. P. 577–583.
- Thorkelsson T., Mimouni F., Namgung R. et al. Similar gastric emptying rates for casein- and whey-predominant formulas in preterm infants // *Pediatr. Res.* 1994. Vol. 36. P. 329–333.
- Infant Formula: Evaluating the Safety of New Ingredients. Institute of Medicine (US) Committee on the Evaluation of the Addition of Ingredients New to Infant Formula. Washington (DC): National Academies Press (US); 2004; Apple Rima, 1987.
- Детское питание : руководство для врачей / под ред. В.А. Тутельяна и И.Я. Коня. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Медицинское информационное агентство, 2017. 784 с.
- Agostoni C., Bresson J.-L., Fairweather-Tait S. et al. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA); Scientific Opinion on the suitability of goat milk protein as a source of protein in infant formulae and in follow on formulae // *EFSA*. 2012. Vol. 10, N 3. P. 2603–2621.
- Скидан И.Н., Грошева Е.В. Опыт применения детских адаптированных смесей на основе цельного новозеландского козьего молока // *Неонатология: новости, мнения, обучение*. 2017. № 3. С. 10–18.
- Скидан И.Н., Казначеев К.С., Кирилова А.В. и др. Функциональные пищевые нутриенты в составе детских адаптированных смесей на основе цельного козьего молока // *Вопр. практ. педиатрии*. 2015. Т. 10, № 4. С. 38–48.
- Kent R.M., Fitzgerald G.F., Hill C. et al. Novel approaches to improve the intrinsic microbiological safety of powdered infant milk formula // *Nutrients*. 2015. Vol. 7, N 2. P. 1217–1244.
- Infant formula: evaluating the safety of new ingredients. Washington : The National Academics Press, DC, USA, 2004.
- Rollins N.C., Bhandari N., Hajeebhoy N. et al. Why invest, and what it will take to improve breastfeeding practices? // *Lancet*. 2016. Vol. 387. P. 491–504.
- Martin C.K., Pei-Ra Ling P-R., Blackburn G.L. Review of infant feeding: key features of breast milk and infant formula // *Nutrients*. 2016. Vol. 8, N 5. P. 279.

References

- Skidan I.N., Gulyaev A.E., Zelenkin I.V., et al. Historical journey to infant feeding. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2014; 83 (2): 68–78. (in Russian)
- Bracken F.J. Infant feeding in the American colonies. *J Am Diet Assoc.* 1953; 29: 349–58.
- Zelenkin I.V., Skidan I.N. Development of neonatal feeding devices: a historical excursus. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii* [Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics]. 2016; (1): 126–34. (in Russian)
- Castilho S.D., Barros Filho A.A. The history of infant nutrition. *J Pediatr (Rio J)*. 2010; 86 (3): 179–88.
- Fomon S. Infant feeding in the 20th century: formula and beikost. *J Nutr.* 2001; 131: 409–20.
- The American Pediatric Society's collective investigation of infantile scurvy in North America. *Arch Pediatr.* 1898; 15: 481–500.
- Foss K.A. Perpetuating "scientific motherhood": infant feeding discourse in *Parents Magazine*, 1930–2007. *Women Health.* 2010; 50 (3): 297–311.
- Jelliffe D., Jelliffe E. Feeding young infants in developing countries: comments on the current situation and future needs. *Stud Fam Plann.* 1978; 11: 72–5.
- Nathoo T., Ostry A.S. "The One Best Way"? Breastfeeding History, Politics, and Policy in Canada from the 19th–21st Century. *Studies in Childhood and Family in Canada Series.* Waterloo: Wilfrid Laurier University Press; 2009: 260 p.
- Child nutrition in child care centers: methodical recommendations approved by the Ministry of Health of the USSR on 02.06.1985 No. 11-14/26-6.
- Hertwig R. The work of the Committee on Foods. The protection of the consumer of food and drugs. *A Symposium Law and Contemporary Problems.* 1933; 1 (1): 55–60.
- Obladen M. Historic records on the commercial production of infant formula. *Neonatology.* 2014; 106 (3): 173–80.
- http://archive.wphna.org/wp-content/uploads/2014/03/1939_Cicely_Williams_Milk_and_murder.pdf
- Collected book of resolutions and decisions of the World Health Assembly and the Executive Committee. 3rd ed. Geneva, 1980; 2: 48 p. (in Russian)
- International guidance code on breastmilk substitutes marketing. Geneva: World Health Organization; 1981: 38 p. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40382/2/9241541601_rus.pdf (in Russian)
- <https://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm048694.htm>
- <https://www.govtrack.us/congress/bills/96/hr6940>
- Technical Regulation of Customs Union "On milk and dairy products safety" (CU TR 033/2013). <http://24.rospotrebнадзор.ru/links/Norm-MetodObesp/TehRegTS/> (in Russian)
- Commission delegated regulation (EU) 2016/127. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32016R0127>
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies, 2014. Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae. *EFSA.* 2014; 12 (7): 3760.
- Codex Alimentarius Commission. Standard for Infant Formula and Formulas for Special Medical Purposes Intended for Infants. *CODEX STAN 72–1981.* (Formerly CAC/RS 72–1972. Adopted as a worldwide Standard 1981. Amended 1983, 1985, 1987. Revision 2007. Amended 2011, 2015, 2016). <http://www.codexalimentarius.org>
- Hernell O. Human milk vs. cow's milk and the evolution of infant formulas. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program.* 2011; 67: 17–28.
- Skidan I.N., Pyr'eva E.A., Kon' I.Ya. Breast milk proteins as a focus for the improvement of recipes for infant adapted milk formulae. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2017; 86 (4): 130–42. (in Russian)
- Kon' I.Ya., Konovalova L.S., Abramova T.V. Contemporary view of adapted milk formula composition and prospects for their perfectibility. *Lechashchii vrach* [Therapist]. 2011; (8): 28–30. (in Russian)
- Infant Formula Guidance Documents & Regulatory Information – FDA <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/InfantFormula/default.htm>
- Food Standards Australia New Zealand. <http://www.foodstandards.gov.au/Pages/default.aspx>
- Guidice C. Harmonisation: Mercosur gets to work on nutrition claims. *EAS Strateg Advice: Europe.* 2012. http://www.eas.eu/News_Item/921 или <http://resources.selerant.com/food-regulatory-news/blog/mercosur-food-law>
- Fomon S.J. *Nutrition of normal infants.* Mosby, St. Louis, Mo; 1993: 395–408.
- Prosser C. Composition and clinical evidence of the safety and efficacy of an infant formula based on goat milk. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii* [Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics]. 2013; 58 (5): 15–22. (in Russian)
- Picone T.A., Benson J.D., Moro G. et al. Growth, serum biochemistries, and amino acids of term infants fed formulas with amino acid and protein concentrations similar to human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1989; 9 (3): 351–60.
- Zhou S.J., Sullivan T., Gibson R.A., et al. Nutritional adequacy of goat milk infant formulas for term infants: a double-blind randomised controlled trial. *Br J Nutr.* 2014; 111: 1641–51.
- van den Driessche M., Peeters K., Marien P., et al. Gastric emptying in formula-fed and breast-fed infants measured with the ¹³C-octanoic acid breath test. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999; 29: 46–51.
- Billeaud C., Guillet J., Sandler B. Gastric emptying in infants with or without gastro-oesophageal reflux according to the type of milk. *Eur J Clin Nutr.* 1990; 44 (8): 577–83.
- Thorkelsson T., Mimouni F., Namgung R., et al. Similar gastric emptying rates for casein- and whey-predominant formulas in preterm infants. *Pediatr Res.* 1994; 36: 329–33.
- Infant Formula: Evaluating the Safety of New Ingredients. Institute of Medicine (US) Committee on the Evaluation of the Addition of Ingredients New to Infant Formula. Washington (DC): National Academies Press (US); 2004; Apple Rima, 1987.
- Tutel'yan V.A., Kon' I.Ya., eds. *Childhood nutrition: physician guidance.* 4-th edition, revised and enlarged. Moscow: Medical News Agency; 2017: 784 p. (in Russian)
- Agostoni C., Bresson J.-L., Fairweather-Tait S., et al. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA); Scientific Opinion on the suitability of goat milk protein as a source of protein in infant formulae and in follow on formulae. *EFSA.* 2012; 10 (3): 2603–21.
- Skidan I.N., Grosheva E.V. Experience in the use of infant adapted formulae based on whole New Zealand goat milk. *Neonatologiya: novosti, mneniya, obuchenie* [Neonatology: News, Opinions, Training]. 2017; (3): 10–8. (in Russian)
- Skidan I.N., Kaznacheev K.S., Kirilova A.V., et al. The functional dietary components in infant formulas from goat milk. *Voprosy prakticheskoy pediatrii* [Clinical Practice in Pediatrics]. 2015; 10 (4): 38–48. (in Russian)
- Kent R.M., Fitzgerald G.F., Hill C., et al. Novel approaches to improve the intrinsic microbiological safety of powdered infant milk formula. *Nutrients.* 2015; 7 (2): 1217–44.
- Infant formula: evaluating the safety of new ingredients. Washington: The National Academies Press, DC, USA; 2004.
- Rollins N.C., Bhandari N., Hajeebhoy N., et al. Why invest, and what it will take to improve breastfeeding practices? *Lancet.* 2016; 387: 491–504.
- Martin C.K., Pei-Ra Ling P.-R., Blackburn G.L. Review of infant feeding: key features of breast milk and infant formula. *Nutrients.* 2016; 8 (5): 279.

Нужна информация по лекарственному препарату? Мы ее вам предоставим!

БЫСТРЫЙ • УМНЫЙ • ТОЧНЫЙ



ЛС ГЭОТАР

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЛЕКАРСТВЕННЫЙ СПРАВОЧНИК



Научные публикации



Действующие вещества



Торговые названия



МКБ-10 | АТХ | КФУ | Компании ▾

Непатентованные наименования от 'якорцев' до 'янтарная'

А Б В Г Д Ж З И Й К Л М Н О П Р С Т У Ф Х Ц Ч Ш Э Я

1 L R

Якорцев стелющихся травы экстракт

- Другие гипохолестеремические средства
- Другие средства, регулирующие функцию органов мочеполовой системы и репродукцию

МКБ-10 +

Входит в состав:

Трибестан® таблетки внутрь

Янтарная кислота

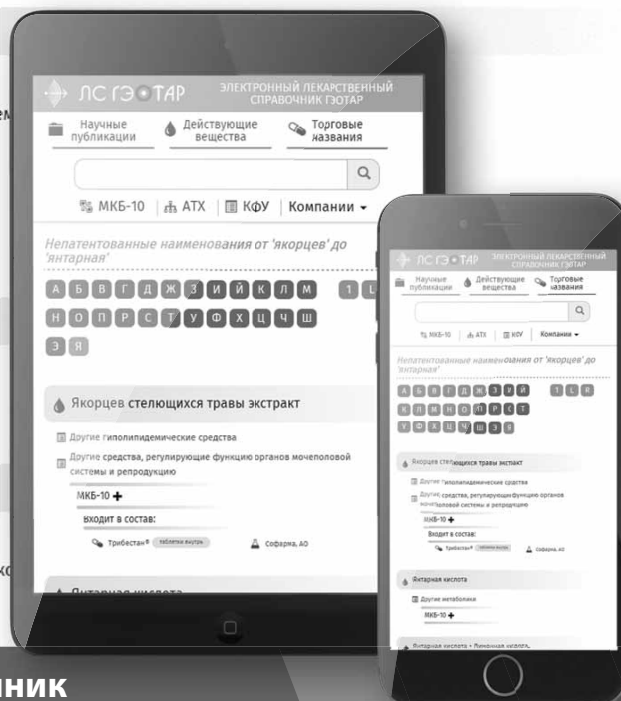
- Другие метаболиты

МКБ-10 +

Янтарная кислота + Лимонная кислота

- Антигипоксанты и антиоксиданты
- Средства для коррекции нарушений при алкоголизме, токсико- и наркомании

МКБ-10 +



**Самый полный и достоверный справочник
в свободном доступе для врачей:**

- ✓ Официальные инструкции Минздрава РФ
- ✓ Полные описания всех зарегистрированных препаратов и действующих веществ
- ✓ Обновление информации в онлайн-режиме
- ✓ Новости фармацевтической индустрии, клинические обзоры
- ✓ Бесплатный доступ для врачей и студентов
- ✓ Интеграция с образовательными модулями и библиотеками врача, студента



www.lsgeotar.ru

ЗАКАЖИ МЕДИЦИНСКУЮ ЛИТЕРАТУРУ

МЕД  **КНИГА**
С Е Р В И С

8-800-555-999-2

www.medknigaservis.ru

- ⇒ Более **5000** наименований книг
- ⇒ Подписка на медицинские журналы
- ⇒ Акции, скидки и подарки покупателям
- ⇒ Электронные библиотеки
- ⇒ Заказ товара **24 часа** в сутки
7 дней в неделю
- ⇒ Быстрая доставка
- ⇒ Разные способы оплаты