

---

**ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ  
И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**  
**CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF MEDICINAL COMPOUNDS  
AND BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES**

---

ISSN 2410-6593 (Print), ISSN 2686-7575 (Online)

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2020-15-6-34-43>



УДК 615,614.35,547.9,57.044,57.083.1,543.95,543.55,543.4

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

**Методика электрохимического биотестирования  
для сравнительного анализа про- и антибиотических свойств  
различных экстрактов**

**В.С. Сибирцев<sup>@</sup>, У.Ю. Нечипоренко**

*Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок, Санкт-Петербург, 191014 Россия*

<sup>@</sup> Автор для переписки, e-mail: [vs1969r@mail.ru](mailto:vs1969r@mail.ru)

**Цели.** Разработать быструю и объективную инструментальную методику оценки микробной обсемененности, а также про- и антибиотических свойств различных образцов пищевой, фармакологической и иной продукции.

**Методы.** Разработанная методика заключается в периодической (через каждые 2 ч) регистрации изменений pH, редокс потенциала и электропроводности жидкой питательной среды, инкубируемой в присутствии и в отсутствие жизнеспособных тестовых микроорганизмов и тестируемых образцов.

**Результаты.** С помощью представленной методики проведён сравнительный анализ про- и антибиотической активности в отношении *Lactobacillus acidophilus* разных концентраций цельных докритических экстрактов, полученных с помощью сжиженного CO<sub>2</sub> из 10 различных видов растительного сырья.

**Выводы.** Проведенные исследования показали, что среди исследованных растительных экстрактов наиболее активные пролонгированные антибиотические свойства проявили экстракты из листьев эвкалипта шаровидного (*Eucalyptus globulus* Labill.) и семян бадьяна настоящего (*Illicium verum* Hook.f.) при их концентрации в тестовой среде (C<sub>ТЭ</sub>) больше 3 об.%; а наиболее активные пролонгированные пробиотические свойства проявил экстракт из травы мяты луговой (*Mentha arvensis* L.) при C<sub>ТЭ</sub> = 0.2 об.%. Начальная антибиотическая активность тестированных экстрактов (ТЭ) в большинстве случаев была больше их пролонгированной активности. В то время как среднесрочная (по времени взаимодействия ТЭ с тестовыми микроорганизмами) антибиотическая активность ТЭ как правило была промежуточной по величине между их начальной и пролонгированной активностью. При этом с уменьшением концентраций ТЭ в тестовой среде их антибиотическая активность монотонно уменьшалась, а пробиотическая активность увеличивалась. Таким образом очевидно, что биологическая активность продукции, включающей

различные растительные экстракты, в значительной степени определяется не только сырьём и способом экстрагирования из него биологически активных веществ, но и концентрацией экстракта в продукции, а также временем взаимодействия упомянутой продукции с микробиотой и т.п. Причем точный характер этих зависимостей в большинстве случаев может быть установлен лишь с помощью значительного числа тестовых испытаний. Последние удобно проводить с помощью представленной в этой работе методики, которая позволяет существенно более быстро, объективно и информативно, а также существенно менее трудоёмко и материалоемко, чем при использовании стандартных микробиологических методов, оценивать исходную микробную обсемененность, а также про- и антибиотические свойства различных образцов как новой, так и уже допущенной к употреблению продукции, а также отдельных ингредиентов и добавок к ней.

**Ключевые слова:** биотестирование микробиологическое, антибиотические свойства, экстракты растительные, микробная обсемененность, электрохимические методы

*Для цитирования:* Сибирцев В.С., Нечипоренко У.Ю. Методика электрохимического биотестирования для сравнительного анализа про- и антибиотических свойств различных экстрактов. *Тонкие химические технологии.* 2020;15(6):34-43. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2020-15-6-34-43>

## RESEARCH ARTICLE

# Method of electrochemical biotesting for comparative analysis of probiotic and antibiotic properties of various plant extracts

Vladimir S. Sibirtsev<sup>@</sup>, Ulyana Yu. Nechiporenko

All-Russia Research Institute for Food Additives, Saint Petersburg, 191014 Russia

<sup>@</sup>Corresponding author, e-mail: vs1969r@mail.ru

**Objectives.** The purpose of this study was to develop an objective instrumental method for assessing microbial contamination and expressing the probiotic and antibiotic properties of food, pharmacological, and other products.

**Methods.** The developed method consists of periodic (every 2 h) registration of changes in pH, redox potential, and electrical conductivity of a liquid nutrient medium incubated in the presence and absence of viable test microorganisms and test samples.

**Results.** Using liquefied CO<sub>2</sub> from 10 different types of plant materials, we carried out a comparative analysis of probiotic and antibiotic activities against *Lactobacillus acidophilus* of various concentrations of subcritical whole extracts obtained.

**Conclusions.** Among the studied plant extracts, the most active prolonged antibiotic properties were exhibited by extracts from the leaves of *Eucalyptus globulus* Labill. and seeds of *Illicium verum* Hook.f. at a concentration in the test medium ( $C_{TE}$ ) more than 3 vol %, whereas the most active prolonged probiotic properties were exhibited by an extract from the herb of *Mentha arvensis* L. at  $C_{TE} = 0.2$  vol %. In most cases, the initial antibiotic activity of the tested extracts (TEs) was greater than their prolonged activity. Also, the mid-term (in terms of TEs interaction time with test microorganisms) antibiotic activity of TEs was intermediate in value between their initial and prolonged activity. In the test medium, the decreasing concentration of TEs decreases their antibiotic activity monotonically and increases their probiotic activity, suggesting that the biological activity of products, including various plant extracts, is largely determined not only by the raw material and the method of extracting biologically active substances from it but also by the concentration of the extract in the product and by the interaction time of the said product with microbiota and others. In most cases, a significant number of tests could establish the exact nature of these dependencies. The proposed method is much more rapid, objective, and informative and

*less laborious and material-intensive than using standard microbiological methods in assessing the initial microbial contamination and the probiotic and antibiotic properties of various samples of both the new and already approved pharmaceuticals, foods, and other products, as well as the individual ingredients and additives.*

**Keywords:** *microbiological biotesting, antibiotic properties, plant extracts, microbiological contamination, electrochemical methods*

**For citation:** Sibirtsev V.S., Nechiporenko U.Yu. Method of electrochemical biotesting for comparative analysis of probiotic and antibiotic properties of various plant extracts. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2020;15(6):34-43 (Russ., Eng.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2020-15-6-34-43>

## ВВЕДЕНИЕ

Всё более актуальной в фармацевтической, косметической, пищевой, кормовой и других отраслях народного хозяйства становится проблема разработки достаточно объективных и в то же время быстрых и доступных для широкого применения методов количественной оценки про- и антибиотических свойств большого количества образцов как новой, так и уже допущенной к применению продукции. Вышеупомянутые методы являются одной из важных составляющих системы мониторинга качества и безопасности продукции. При их реализации применяются как многоклеточные, так и одноклеточные тестовые живые организмы. Причем последние используются не только как наиболее дешевая, доступная и статистически достоверная модель живых организмов, в целом, но и как модель полезной естественной микробиоты человека, а также природной микробиоты, способной вызывать различные инфекционные заболевания, токсикозы, аллергические реакции, способствовать порче пищевой и иной продукции и т.д.

Однако принятые сейчас в качестве стандартных при микробиологическом тестировании процедуры визуальной оценки общей выживаемости микроорганизмов либо величины зоны задержки роста их колоний требуют для своего проведения значительных затрат времени, материалов и труда квалифицированного персонала, давая, в результате, лишь весьма неполную, субъективную и «статичную» информацию о нарушениях жизнедеятельности тестовых организмов [1–3]. Таким образом, перспективным представляется использование в микробиологическом тестировании инструментальных технологий, среди которых наиболее простыми в исполнении, достоверными и универсальными являются сейчас различные оптические и электрохимические методы.

Кроме того, в продукции, производимой и потребляемой человеческим обществом, ощущается всё больший недостаток биологически активных веществ (БАВ) природного происхождения, способствующих нормальному развитию и функционированию как самого человеческого организма

(ослабленного стрессами, наличием различных физико-химических факторов загрязнения окружающей среды, недостатком природного освещения и физической активности, контактами с многочисленной посторонней микробиотой и т.п.), так и симбиотически связанной с ним полезной микробиоты, либо угнетению жизнедеятельности вредной для человека микробиоты.

Производство концентрированных синтетических аналогов БАВ при современном уровне развития технологий часто является затратным с экономической точки зрения, а также малоэффективным вследствие сложности достижения нужной степени чистоты, стереоспецифичности и других параметров, способных обеспечить достаточно высокую степень биологической активности таких соединений. Кроме того, БАВ природного происхождения по сравнению с синтетическими средствами, как правило, обладают существенно меньшими по широте спектра и интенсивности действия на человеческий и другие живые организмы побочными эффектами. А одним из основных источников таких БАВ, используемых в качестве функциональных добавок к фармацевтической, пищевой и другой продукции, являются сейчас экстракты и эфирные масла, получаемые из различного растительного сырья.

При этом эфирные масла, получаемые, как правило, дистилляцией либо, в редких случаях, холодным или горячим отжимом растительного сырья [4], позволяют достичь существенно большей и стабильной во времени биологической активности конечного продукта по сравнению с водными, спиртовыми и иными растительными экстрактами (РЭ), получаемыми без удаления экстрагентов. Вследствие этого эфирные масла широко применяются в качестве добавок к пищевой, фармацевтической, косметической и иной продукции, обладающих избирательным либо малоспецифическим про- или антимикробным действием; либо добавок, обладающих различными видами нормализующего действия (используемого, в том числе, при лечении различных заболеваний); либо консервирующих, антиоксидантных, ароматизирующих, вкусовых и иных видов добавок [3, 4–13].

Кроме того, эфирные масла используются в качестве антисептиков, экологически безопасных инсектицидов и пестицидов, добавок к различным стоматологическим, ранозаживляющим и другим медицинским и упаковочным материалам и т.п. [5, 14–19].

Однако дистилляция позволяет извлекать из сырья только достаточно летучие и термостабильные вещества, а отжим слишком критичен к сырью и даёт, как правило, слишком малый выход из него конечного продукта. Вследствие этого в последнее время всё большее применение вместо эфирных масел находят экстракты, получаемые из растительного сырья с последующим удалением из конечного продукта экстрагента за счёт повышения температуры, понижения давления и т.п. В свою очередь, из таких экстрактов сейчас одними из наиболее распространённых становятся РЭ, получаемые с использованием в качестве экстрагента сжиженного углекислого газа (СО<sub>2</sub>РЭ), который затем полностью удаляется из конечного продукта за счёт, как уже говорилось, изменения давления и температуры последнего [20–26].

В частности, ООО «Биоцевтика» (Россия, Московская область, г. Дедовск)<sup>1</sup> к настоящему времени уже не только разработала, но и внедрила в производство с последующей достаточно широкой реализацией целую линейку йогуртов, майонезов, растительных и сливочных масел, пряных смесей (сухих, жирно- либо водорастворимых), соков, лимонадов и т.п. с добавками различных СО<sub>2</sub>РЭ (производимых этой же компанией).

При этом, как правило, упомянутые СО<sub>2</sub>РЭ характеризуются, по сравнению с эфирными маслами, существенно большим разнообразием входящих в их состав БАВ. Если экстрагирование проводится при давлении выше 7.6 МПа и температуре углекислого газа (СО<sub>2</sub>) ниже 31 °С, такие экстракты называются «докритическими». В противном случае СО<sub>2</sub>РЭ называются «сверхкритическими» (поскольку СО<sub>2</sub> в них, находясь в сверхкритическом состоянии, проявляет свойства как жидкости, так и газа). Кроме того, СО<sub>2</sub>РЭ делятся на «селективные» (получаемые при низких давлениях СО<sub>2</sub> и имеющие состав, близкий к эфирным маслам) и «цельные» (получаемые при высоких давлениях СО<sub>2</sub>). Причем наиболее богаты различными БАВ цельные докритические СО<sub>2</sub>РЭ, имеющие в своём составе помимо летучих компонентов, обычных для эфирных масел, также более тяжёлые растительные смолы, парафины, пигменты и т.п. Такие СО<sub>2</sub>РЭ, как правило, обладают более вязкой пастообразной консистенцией, нежели «обычные» эфирные масла, но легко растворяются как эфирами, так и растительными маслами (хотя в ряде случаев для их растворения требуется небольшое нагревание).

<sup>1</sup> URL: <https://biozevtika.ru>, дата обращения 06.10.2020. [URL: <https://biozevtika.ru>. Accessed October 06, 2020.]

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования стала разработка быстрой и объективной инструментальной методики оценки как микробной обсемененности, так и про- и антибиотических свойств образцов различной продукции, а также отдельных ингредиентов и добавок к ней; с последующим сравнительным анализом с помощью разработанной методики влияния на динамику жизнедеятельности микробиоты человека различных растительных экстрактов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования в настоящей работе были взяты цельные докритические экстракты, произведенные ООО «Казанский завод экстрактов» (Россия, г. Казань)<sup>2</sup> с помощью сжиженного СО<sub>2</sub> при его давлении в 7.3 МПа и температуре 20 °С из следующих видов растительного сырья: листья эвкалипта шаровидного (*Eucalyptus globulus Labill.*) (№ 1), бутоны гвоздичного дерева (гвоздика, *Syzygium aromaticum L. Merr. & L.M. Perry*) (№ 2), корни имбиря лекарственного (*Zingiber officinale Roscoe*) (№ 3), побеги шалфея лекарственного (*Salvia officinalis L.*) (№ 4), трава тимьяна ползучего (чабрец, *Thymus serpyllum L.*) (№ 5), трава душицы обыкновенной (*Origanum vulgare L.*) (№ 6), трава мяты луговой (*Mentha arvensis L.*) (№ 7), побеги розмарина лекарственного (*Rosmarinus officinalis L.*) (№ 8), семена бадьяна настоящего (анис звёздчатый, *Illicium verum Hook.f.*) (№ 9), семена кардамона зелёного (*Elettaria cardamomum L. Maton*) (№ 10).

Данный завод был выбран потому, что он является в настоящее время крупнейшим в России производителем СО<sub>2</sub>РЭ, используемых в качестве источников БАД в медицине, ветеринарии, косметической и пищевой продукции, бытовой химии и т.п. Сырье № 1 было получено из Австралии, сырье № 2, № 3, № 8–10 из Индии, сырье № 4 и сырье № 5–7 из России (Краснодарский край и окрестности г. Казань, соответственно).

При этом для анализа влияния различных концентраций тестируемых экстрактов (ТЭ) на динамику жизнедеятельности микроорганизмов, исходя из результатов уже имевшихся авторских наработок по различным способам инструментального биотестирования [27–33], была разработана описываемая далее методика.

Для каждой партии ТЭ проводилось по четыре серии измерений, перед началом каждой из которых готовилась питательная среда, представлявшая собой стерильный водный раствор с pH 7.2 ± 0.2, содержащий 5 г/л глюкозы, 20 г/л белкового гидролизата и 2 г/л NaCl. Затем эта питательная среда засеивалась *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, которые были

<sup>2</sup> URL: <https://extract.market>, дата обращения 06.10.2020. [URL: <https://extract.market>. Accessed October 06, 2020.]

выбраны в качестве типичных представителей микробиоты, широко распространенной как во вне, так и внутри организма человека и других живых организмов, активно участвуя при этом в деструкции различных биополимеров, а также широко используя человеком во многих биотехнологических процессах, включая биоконсервирование, силосование, получение различной кисломолочной продукции и т.п. После этого упомянутая питательная среда с тестовыми микроорганизмами инкубировалась при  $37.0 \pm 0.1$  °С, пока содержание жизнеспособных микроорганизмов в ней не достигало примерно  $5 \times 10^6$  кл/мл, что удостоверялось нефелометрическим способом с применением бактериального стандарта мутности.

Далее, полученная тестовая среда разливалась по тестовым измерительным емкостям (ИЕ), в каждую из которых предварительно добавлялось (по три ИЕ в параллель) количество ТЭ, необходимое для достижения заданной его концентрации в тестовой среде. При этом в качестве контроля использовали тестовую среду с жизнеспособными микроорганизмами без ТЭ («контроль-1») и раствор с заданной концентрацией ТЭ в стерильной питательной среде («контроль-2»), также помещенные в ИЕ в трех повторностях.

Затем как тестовые, так и все контрольные ИЕ инкубировались при  $37.0 \pm 0.1$  °С в течение ещё 6 ч. При этом у тестовых сред, содержащихся в каждой из ИЕ, последовательно, с интервалом 2 ч регистрировались значения рН, редокс потенциала ( $E$ , мВ) и удельной линейной низкочастотной электропроводности ( $X$ , мСм/см). При этом значения рН и  $E$  регистрировались с помощью иономера «Эксперт-001» (ООО «Эконикс-Эксперт», Россия, г. Москва)<sup>3</sup> с комбинированными электродами «ЭСК-10601/7» и «ЭРП-105». Тогда как значения  $X$  регистрировались с помощью кондуктометра «Эксперт-002» (ООО «Эконикс-Эксперт», Россия, г. Москва) с датчиком «УЭП-П-С», работающим на частоте 1.6 кГц. После чего общие степени активирования (+) либо ингибирования (–) жизнедеятельности тестовых микроорганизмов заданными концентрациями тестируемых образцов после  $k$  часов их совместного инкубирования в жидкой тестовой среде ( $\varepsilon_{i,k}$ , %) рассчитывались по формуле (1)

$$\varepsilon_{i,k} = (\varepsilon_{\text{pH},k} + 0.7\varepsilon_{E,k} + 0.7\varepsilon_{X,k})/2.4 \quad (1)$$

При этом величины  $\varepsilon_{\text{pH},k}$ ,  $\varepsilon_{E,k}$  и  $\varepsilon_{X,k}$  определялись отдельно по результатам измерений значений рН,  $E$  и  $X$  у тестовых сред в ИЕ в ходе инкубации этих ИЕ по формуле (2)

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

Индекс  $i$  показывает измерения по какому параметру (рН,  $E$  или  $X$ ) учитывались в уравнении (2) (например,  $\varepsilon_{\text{pH},k} = 100 \times (\Delta Y_{\text{pH},k} - \Delta Y_{c,\text{pH},k})/\Delta Y_{c,\text{pH},k}$ ). Величины  $\Delta Y_{i,k}$  и  $\Delta Y_{c,i,k}$  определялись как усредненные по выборке из  $N$  образцов с одинаковыми концентрациями экстрактов, приготовленных одинаковым способом из одного вида сырья (в нашем случае  $N = 3 \times 4 = 12$ ), изменения значений  $i$ -параметра тестовой среды (рН,  $E$  или  $X$ ), произошедшие за  $k$  часов от начала инкубирования этой среды в присутствии заданной концентрации ТЭ ( $\Delta Y_{i,k}$ , наблюдаемое в тестовых ИЕ) либо в отсутствие ТЭ ( $\Delta Y_{c,i,k}$ , наблюдаемое в «контроле-1»). Например,  $\Delta Y_{\text{pH},2} = \text{pH}_{\text{T},2} - \text{pH}_{\text{T},0}$ , а  $\Delta Y_{c,X,4} = X_{\text{C},4} - X_{\text{C},0}$  (где  $\text{pH}_{\text{T},0}$  – значение рН среды в тестовой ИЕ в начале её инкубирования,  $\text{pH}_{\text{T},2}$  – значение рН среды в тестовой ИЕ через 2 ч после начала её инкубирования,  $X_{\text{C},0}$  – значение  $X$  среды в «контроле-1» в начале инкубирования,  $X_{\text{C},4}$  – значение  $X$  среды в «контроле-1» через 4 ч после начала инкубирования) и т.д.

Ошибка определения каждой из усредненных величин  $\varepsilon_{\text{pH},k}$ ,  $\varepsilon_{E,k}$  и  $\varepsilon_{X,k}$  рассчитывалась стандартным образом [34–36]. После чего, исходя из стандартной формулы  $\Delta z(x_i) = \sum_i (\Delta x_i \delta z / \delta x_i)$  [34–36], суммарная ошибка определения величины  $\varepsilon_{i,k}$  вычислялась как  $\Delta \varepsilon_{i,k} = (\Delta \varepsilon_{\text{pH},k} + 0.7\Delta \varepsilon_{E,k} + 0.7\Delta \varepsilon_{X,k})/2.4$ .

Параметры рН,  $E$  и  $X$  были выбраны для оценки общей степени активирования или ингибирования жизнедеятельности тестовых микроорганизмов заданными концентрациями ТЭ, потому что они наиболее надежно измеряются инструментально и при этом достаточно чувствительны для применения их в контроле ускорения или замедления преобразования жизнеспособными микроорганизмами, присутствующими в тестовой среде, катаболитов, присутствующих в той же среде, в анаболиты после  $k$  часов инкубации упомянутой тестовой среды в присутствии ТЭ по сравнению с контролем, где ТЭ отсутствует. Указанная чувствительность обусловлена тем, что преобразование микроорганизмами катаболитов в анаболиты существенно изменяет кислотность, электрохимический окислительно-восстановительный потенциал и электрическую проводимость тестовых сред.

Правомерность объединения в один параметр  $\varepsilon_{i,k}$  трёх таких величин, как  $\varepsilon_{\text{pH},k}$ ,  $\varepsilon_{E,k}$  и  $\varepsilon_{X,k}$  можно объяснить тем, что каждая из этих величин независимо нормировалась на контрольные значения определяющего её показателя и, таким образом, единообразно (в % по отношению к контролю) отражала изменение метаболизма тестовых микроорганизмов в присутствии ТЭ, в то же время несколько по-разному характеризуя это изменение, поскольку изменение рН,  $E$  и  $X$  в тестовой среде обуславливали разные метаболические

<sup>3</sup> URL: <http://ecosolution.ru>, дата обращения 06.10.2020. [URL: <http://ecosolution.ru>. Accessed October 06, 2020.]

ские процессы, осуществляемые присутствующими там жизнеспособными микроорганизмами. В результате чего суммарная величина  $\varepsilon_V$  более информативно и адекватно характеризовала изменения метаболической активности тестовых микроорганизмов, чем каждая из величин  $\varepsilon_{pH}$ ,  $\varepsilon_E$  и  $\varepsilon_X$  по-отдельности.

Последнее подтверждается тем, что для  $\varepsilon_V$  имела место 90% достоверная корреляция с изменением количества колониеобразующих единиц (КОЕ) тестовых микроорганизмов, определяемым с применением стандартной методики [1–3, 37, 38].

Кроме того, используя разработанную нами методику, можно определять также микробную обсеменённость ( $C_M$ ) тестируемых образцов. Для этого расчет производится по формулам, аналогичным (1) и (2), где  $\Delta Yt$  определяется для «контроля-1», а  $\Delta Yc$  – для «контроля-2». После чего полученное значение  $C_M$  домножается на калибровочный коэффициент, определяемый предварительно на основании сравнения результатов, полученных с помощью разрабо-

танной нами методики, с результатами, полученными для тех же концентраций тех же ТЭ с помощью вышеупомянутой стандартной методики микробиологического тестирования. При этом результирующая величина  $C_M$  покажет сколько жизнеспособных микроорганизмов исходно присутствовало в тестируемом образце. Причем, если вместо «общенакопительной» питательной среды, использованной в этой работе, инкубировать тестируемые образцы в селективных питательных средах, то указанным выше способом можно определять у этих образцов микробную обсеменённость не только общую, но и применительно к отдельным видам и штаммам микроорганизмов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее интересные данные, полученные описанным выше методом применительно к объектам настоящего исследования, представлены в таблице и на рисунке.

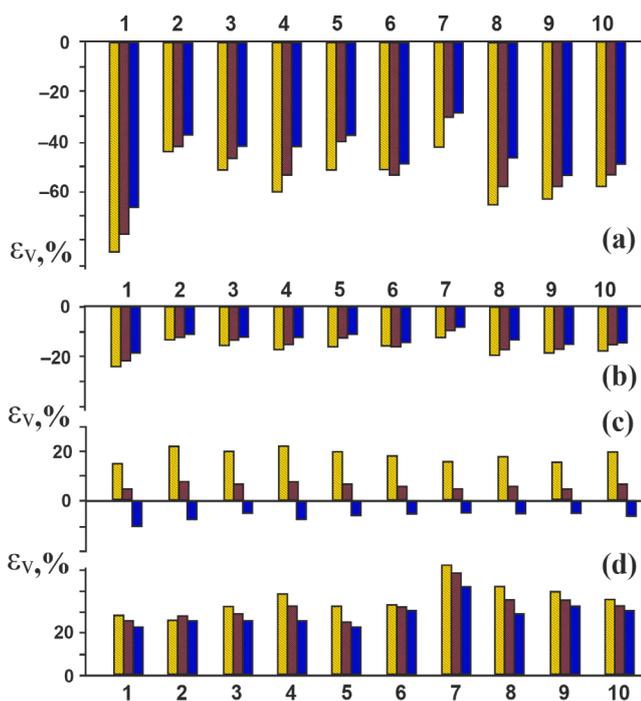
Общая степень активирования (+) либо ингибирования (–) жизнедеятельности *Lactobacillus acidophilus* ( $\varepsilon_{V,k}$  %), определявшаяся через 2, 4 и 6 ч их инкубирования в жидкой питательной среде в присутствии разных количеств цельных докритических экстрактов, получаемых с помощью сжиженного  $CO_2$  из разного растительного сырья ( $CO_2PE$ )

The total degree of activation (+) or inhibition (–) of the vital activity of *Lactobacillus acidophilus* ( $\varepsilon_{V,k}$  %), determined after 2, 4, and 6 h of their incubation in a liquid nutrient medium in the presence of different amounts of whole subcritical extracts obtained using liquefied  $CO_2$  from various plant materials ( $CO_2PE$ )

| Биологическая активность<br>Biological activity | № сырья / No. of raw material                      |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|---|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|   | 1  | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   | 9   | 10  |
|   | конц. $CO_2PE$ 3.0 об.% / conc. $CO_2PE$ 3.0 vol % |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| $\varepsilon_{V,2}$ %                           | -84  | -44 | -51 | -60 | -51 | -51 | -42 | -65 | -63 | -58 |
| $\varepsilon_{V,4}$ %                           | -77  | -42 | -47 | -53 | -40 | -53 | -30 | -58 | -58 | -53 |
| $\varepsilon_{V,6}$ %                           | -67  | -37 | -42 | -42 | -37 | -49 | -28 | -47 | -53 | -49 |
|   | конц. $CO_2PE$ 1.5 об.% / conc. $CO_2PE$ 1.5 vol % |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| $\varepsilon_{V,2}$ %                           | -24  | -13 | -15 | -17 | -15 | -15 | -12 | -19 | -18 | -17 |
| $\varepsilon_{V,4}$ %                           | -22  | -12 | -13 | -15 | -12 | -16 | -9  | -17 | -17 | -15 |
| $\varepsilon_{V,6}$ %                           | -19  | -11 | -12 | -12 | -11 | -14 | -8  | -13 | -15 | -14 |
|   | конц. $CO_2PE$ 0.5 об.% / conc. $CO_2PE$ 0.5 vol % |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| $\varepsilon_{V,2}$ %                           | 15   | 22  | 20  | 22  | 20  | 18  | 16  | 18  | 16  | 20  |
| $\varepsilon_{V,4}$ %                           | 5  | 8   | 7   | 8   | 7   | 6   | 5   | 6   | 5   | 7   |
| $\varepsilon_{V,6}$ %                           | -10  | -7  | -5  | -7  | -6  | -5  | -4  | -5  | -5  | -6  |
|   | конц. $CO_2PE$ 0.2 об.% / conc. $CO_2PE$ 0.2 vol % |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| $\varepsilon_{V,2}$ %                           | 28   | 26  | 32  | 38  | 32  | 33  | 52  | 41  | 39  | 36  |
| $\varepsilon_{V,4}$ %                           | 26   | 28  | 29  | 33  | 25  | 32  | 48  | 36  | 36  | 33  |
| $\varepsilon_{V,6}$ %                           | 23   | 26  | 26  | 26  | 23  | 31  | 42  | 29  | 33  | 31  |

*Примечания.* Методику определения  $\varepsilon_{V,k}$  а также соответствие № 1–10 видов сырья, использованного для приготовления тестируемых экстрактов, см. в разделе «Материалы и методы». Относительная ошибка определения  $\varepsilon_V$  для всех указанных в таблице значений находилась в диапазоне от 10 до 20%.

*Note.* See the Materials and Methods section for the method in determining  $\varepsilon_{V,k}$  and the corresponding raw material Nos. 1–10 used to prepare the tested extracts. The relative error in determining  $\varepsilon_V$  for all values indicated in the table was in the range from 10 to 20%.



Сравнительная биологическая активность тестируемых экстрактов (ТЭ) в отношении *L. acidophilus* при разных концентрациях ТЭ в тестовой среде (а – 3.0 об.%, б – 1.5 об.%, с – 0.5 об.%, d – 0.2 об.%). По оси ординат отложены значения  $\epsilon_v$  (%), определявшиеся для ТЭ по результатам измерений рН, редокс потенциала и электропроводности жидких питательных сред с *L. acidophilus* через 2, 4 и 6 ч инкубирования по формулам (1) и (2). По оси абсцисс отложены № сырья, из которого получали ТЭ.

Comparative biological activity of the tested extracts (TEs) against *L. acidophilus* at different TE concentrations in the test medium (a: 3.0 vol %; b: 1.5 vol %; c: 0.5 vol %; d: 0.2 vol %). The ordinate shows the  $\epsilon_v$  (%) values determined for TE based on the results of measuring the pH, redox potential, and electrical conductivity of liquid nutrient media with *L. acidophilus* after 2, 4, and 6 h of incubation according to Equations (1) and (2). The abscissa shows the number of raw materials from which TEs were obtained.

Исходя из представленного видно, что с изменением концентраций ТЭ в тестовой среде ( $C_{ТЭ}$ ) достаточно существенно может меняться характер их как пробиотической, так и антибиотической активности (см. рисунок).

Также разную про- и антибиотическую активность имели ТЭ, полученные из разных частей разных растений. В частности, это отчетливо видно на примере сравнения антибиотической активности экстрактов, полученных из листьев эвкалипта шаровидного, травы душицы обыкновенной и травы мяты луговой, где при  $C_{ТЭ} = 3$  об.% значения  $\epsilon_{v,6}$  составили  $-67 \pm 8$ ,  $-49 \pm 6$  и  $-28 \pm 4$ % (см. таблицу для экстрактов № 1, № 6 и № 7), а также на примере сравнения

пробиотической активности тех же экстрактов, где при  $C_{ТЭ} = 0.2$  об.% значения  $\epsilon_{v,6}$  составили  $23 \pm 3$ ,  $31 \pm 4$  и  $42 \pm 5$ %.

В целом же, среди исследованных нами экстрактов наиболее активные пролонгированные (долгосрочные) антибиотические свойства (количественно характеризуемые в таблице величиной  $\epsilon_{v,6}$ , определяемой через 6 ч инкубации тестовых микроорганизмов в присутствии ТЭ) проявили экстракты из листьев эвкалипта шаровидного и семян бадьяна настоящего при  $C_{ТЭ} \geq 3$  об.% (см. таблицу для экстрактов № 1 и № 9). В то время как наиболее активные пролонгированные пробиотические свойства проявил экстракт из травы мяты луговой при  $C_{ТЭ} = 0.2$  об.% (см. таблицу для экстракта № 7).

Начальная (краткосрочная) биологическая активность ТЭ (количественно характеризуемая в таблице величиной  $\epsilon_{v,2}$ , определяемой через 2 ч инкубации тестовых микроорганизмов в присутствии ТЭ) в большинстве случаев была достоверно больше их пролонгированной активности. Это объяснялось, вероятно, как адаптацией тестовых микроорганизмов к присутствию ТЭ, так и уменьшением с течением времени активности и общего количества БАВ, содержащихся в ТЭ, приходящегося на одну клетку тестового микроорганизма. Причем последнее имело место потому, что общее количество клеток микроорганизмов во время инкубации содержащей их тестовой среды увеличивалось, тогда как активность и общее количество БАВ, содержащихся в ТЭ, в ходе инкубации уменьшались вследствие биохимической и физико-химической денатурации и деструкции упомянутых БАВ.

Среднесрочная (по времени взаимодействия ТЭ с тестовыми микроорганизмами) биологическая активность ТЭ (количественно характеризуемая в таблице величиной  $\epsilon_{v,4}$ , определяемой через 4 ч инкубации тестовых сред с ТЭ) в большинстве случаев была промежуточной по величине между  $\epsilon_{v,2}$  и  $\epsilon_{v,6}$  и лишь иногда (как, например, в случае экстрактов № 2 и № 9 при  $C_{ТЭ} \geq 1.5$  об.%) превышала как  $\epsilon_{v,2}$ , так и  $\epsilon_{v,6}$  тех же ТЭ (см. таблицу и рисунок).

При этом с уменьшением концентраций ТЭ в тестовой среде их антибиотическая активность в отношении тестовых микроорганизмов достоверно и монотонно уменьшалась, а пробиотическая активность, наоборот, увеличивалась. Так, например, при  $C_{ТЭ} = 3.0, 1.5$  и  $0.2$  об.% величина  $\epsilon_{v,6}$  у экстракта из листьев эвкалипта шаровидного была равна  $-67 \pm 8$ ,  $-19 \pm 3$  и  $23 \pm 3$ %; а величина  $\epsilon_{v,6}$  у экстракта из травы мяты луговой была равна  $-28 \pm 4$ ,  $-8 \pm 1$  и  $42 \pm 5$ % (см. таблицу для экстрактов № 1 и № 7).

Указанные действующие концентрации ТЭ оказались существенно большими, чем, например, у такого широко используемого синтетического антисептика

широко спектра действия, как хлоргексидин биглюконат (ХГ, исследовавшийся нами в виде 0.05% водного раствора, изготовленного ООО «Росбио», Россия [29]), который уже при  $C_{ТЭ} = 0.0001$  и 0.001 об.% демонстрировал в отношении *L.acidophilus*  $\varepsilon_{v,6} = -35 \pm 5$  и  $-1 \pm 6\%$ . Однако ХГ не предназначен для внутреннего применения, а преимущества растительных экстрактов перед антибиотиками уже были рассмотрены нами во введении к этой статье. Кроме того, исходя из этих данных, мы видим, что представляемая в данной статье методика быстрого инструментального микробиологического тестирования может быть успешно использована для оценки про- и антибиотических свойств не только растительных экстрактов, но и многих других препаратов и материалов (в том числе полученных синтетически).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, мы доказали, что с помощью представленной в этой работе методики можно существенно более быстро (в течение нескольких часов, а не суток), объективно и информативно, чем при использовании стандартных методов, оценивать исходную микробную обсеменённость, а также влияние на динамику жизненной активности тестовых микроорганизмов образцов различной продукции (такой, например, как растительные экстракты).

При этом большая объективность предлагаемой методики достигается за счёт уменьшения роли субъективного человеческого фактора при замене в процессе измерений визуальных методов на инструментальные. В то время как большая информативность предлагаемой методики достигается за счёт того, что, во-первых, инструментальные способы измерения чувствительнее визуальных, применяемых в стандартных методах. Во-вторых, предлагаемая методика даёт возможность оценивать динамику изменения жизненной активности микроорганизмов на множестве произвольно выбираемых временных отрезков, в отличие от стандартных процедур, где измерения производятся лишь один раз, в конце периода инкубации тестируемых образцов. И в-третьих, предлагаемая методика предполагает оценку изменения жизненной активности микроорганизмов сразу по нескольким независимым показателям (таким как рН, редокс потенциал и электропроводность тестовой среды), а не только по одному (мутности тестовой среды, числу колоний микроорганизмов или величине зоны задержки их роста), как в случае применения стандартных методик. Кроме того, представленная здесь методика существенно менее материалоемка и трудоемка по сравнению с аналогичными стандартными методами, а также даёт гораздо больше возможностей для автоматизации всего процесса анализа.

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

Кроме того, в отношении исследованных нами растительных экстрактов следует отметить, что среди них наиболее активные пролонгированные (долгосрочные) антибиотические свойства проявили экстракты листьев эвкалипта шаровидного и семян бадьяна настоящего при их концентрациях в тестовой среде от 3 об.% и выше. Наиболее активные долгосрочные пробиотические свойства проявил экстракт из травы мяты луговой при его концентрации в тестовой среде равной 0.2 об.%. Начальная биологическая активность тестируемых экстрактов (ТЭ) в большинстве случаев была достоверно больше их долгосрочной активности. Среднесрочная (по времени взаимодействия ТЭ с тестовыми микроорганизмами) биологическая активность ТЭ, как правило, была промежуточной по величине и лишь иногда превышала не только пролонгированную, но и начальную биологическую активность ТЭ. С уменьшением концентраций ТЭ в тестовой среде их антибиотическая активность монотонно уменьшалась, а пробиотическая активность увеличивалась.

Таким образом очевидно, что характер про- и антибиотической активности фармацевтической, косметической, пищевой, кормовой и иной продукции, в том числе включающей различные растительные экстракты, в значительной степени определяется выбором не только сырья и способа экстрагирования из него БАВ, но и концентрации действующих веществ в продукции. Причем точный характер этих зависимостей в большинстве случаев может быть установлен лишь эмпирически, с помощью значительного числа тестовых испытаний, которые удобно проводить с помощью представленной в этой работе методики.

#### **Финансовая поддержка**

*Данное исследование не имело какой-либо финансовой поддержки от сторонних организаций.*

#### **Financial support**

*This study did not have any financial support from outside organizations.*

## Вклад авторов

**В.С. Сибирцев** – концепция и дизайн исследования, написание текста статьи;

**У.Ю. Нечипоренко** – сбор материала, участие в проведении исследований.

## Authors' contribution

**V.S. Sibirtsev** – concept and design of the study, writing the text of the article;

**U.Yu. Nechiporenko** – collecting materials, conducting research.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
The authors declare no conflicts of interest.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Sutherland J., Miles M., Hedderley D., Li J., Devoy S., Sutton K., Lauren D. *In vitro* effects of food extracts on selected probiotic and pathogenic bacteria. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2009;60(8):717-727. <https://doi.org/10.3109/09637480802165650>
- Das S., Anjeza C., Mandal S. Synergistic or additive antimicrobial activities of Indian spice and herbal extracts against pathogenic, probiotic and food-spoiler microorganisms. *Int. Food Res. J.* 2012;19(3):1185-1191.
- Al-Zubairi A., Al-Mamary M. A., Al-Ghasani E. The antibacterial, antifungal and antioxidant activities of essential oil from different aromatic plants. *Glo. Adv. Res. J. Med. Med. Sci.* 2017;6(9):224-233. <http://garj.org/garjmms>
- Rodino S., Butu M. Herbal Extracts—New Trends in Functional and Medicinal Beverages. In: Grumezescu A.M., Holban A.M. (Eds.). *Functional and Medicinal Beverages. Volume 11: The Science of Beverages.* Academic Press; 2019. P. 73-108. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816397-9.00003-0>
- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* 2004;94(3):223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxicol.* 2008;46(2):446-475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Tripathi A.K., Bhoyar P.K., Baheti J.R., Biyani D.M., Khalique M., Kothmire M.S., Bhanarkar A.B. Herbal antidiabetics: a review. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences (IJRPS).* 2011;2(1):30-37.
- Fatima A., Alok S., Agarwal P., Singh P.P., Verma A. Benefits of herbal extracts in cosmetics: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (IJPSR).* 2013;4(10):3746-3760. [https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.4\(10\).3746-60](https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.4(10).3746-60)
- Alok S., Jain S.K., Verma A., Kumar M., Mahor A., Sabharwal M. Herbal antioxidant in clinical practice: a review. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2014;4(1):78-84. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60213-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60213-6)
- Radice M., Manfredini S., Ziosi P., Dissette V., Buso P., Fallacara A., Vertuani S. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review. *Fitoterapia.* 2016;114:144-162. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.09.003>
- Merghni A., Marzouki H., Hentati H., Aouni M., Mastouri M. Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. *Curr. Res. Transl. Med.* 2016;64(1):29-34. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2015.10.003>
- Fani M., Kohanteb J. *In vitro* antimicrobial activity of thymus vulgaris essential oil against major oral pathogens. *J. Evid. Based Complementary Altern. Med.* 2017;22(4):660-666. <https://doi.org/10.1177/2156587217700772>
- Kokina M.S., Frioui M., Shamtsyan M., Sibirtsev V.S., Krasnikova L.V., Konusova V.G., Simbirtsev A.S. Influence of pleurotus ostreatus beta-glucans on the growth and activity of certain lactic acid bacteria. *Sci. Study Res. Chem. Chem. Eng. Biotechnol. Food Ind.* 2018;19(4):465-471.
- Atarés L., Chiralt A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends Food Sci. Technol.* 2016;48:51-62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.001>
- Ribeiro-Santos R., Andrade M., Melo N. R., Sanches-Silva A. Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. *Trends Food Sci. Technol.* 2017;61:132-140. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.021>
- Ju J., Xie Y., Guo Y., Cheng Y., Qian H., Yao W. Application of edible coating with essential oil in food preservation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019;59(15):2467-2480. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1456402>
- Yuan G., Chen X., Li D. Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems. *Food Res. Int.* 2016;89(1):117-128. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.004>
- Donsi F., Ferrari G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. *J. Biotechnol.* 2016;233:106-120. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.005>
- Pavela R., Benelli G. Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. *Trends Plant Sci.* 2016;21(12):1000-1007. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>
- Rout P.K., Naik S.N., Rao Y.R. Subcritical CO<sub>2</sub> extraction of floral fragrance from *Quisqualis indica*. *J. Supercrit. Fluids.* 2008;45(2):200-205. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2008.02.011>
- Sahena F., Zaidul I.S.M., Jinap S., Karim A.A., Abbas K.A., Norulaini N.A.N., Omar A.K.M. Application of supercritical CO<sub>2</sub> in lipid extraction – A review. *J. Food Eng.* 2009;95(2):240-253. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.026>
- Ibadullaeva G.S., Pichkhadze G.M., Ustenova G.O., Dil'barkhanov R., Tikhonova S.A., Grud'ko V.A., Bezv N.Yu., Yudina Yu.V. Chemical composition of the CO<sub>2</sub>-extract of *Acorus Calamus* obtained under subcritical conditions. *Pharmaceut. Chem. J.* 2015;49(6):388-392. <https://doi.org/10.1007/s11094-015-1290-0>
- Valle Jr.D.L., Cabrera E.C., Puzon J.J.M., Rivera W.L. Antimicrobial activities of methanol, ethanol and supercritical CO<sub>2</sub> extracts of *Philippine Piper betle* L. on clinical isolates of Gram positive and Gram negative bacteria with transferable multiple drug resistance. *PLoS ONE.* 2016;11(1):e0146349. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146349>

24. Lazarotto M., Valério A., Boligon A., Tres M.V., Scapinello J., Dal Magro J., Oliveira J.V. Chemical composition and antibacterial activity of bergamot peel oil from supercritical CO<sub>2</sub> and compressed propane extraction. *Open Food Sci. J.* 2018;10(1):16-23. <https://doi.org/10.2174/1874256401810010016>
25. Vieitez I., Maceiras L., Jachmanián I., Alborés S. Antioxidant and antibacterial activity of different extracts from herbs obtained by maceration or supercritical technology. *J. Supercrit. Fluids.* 2018;133(1):58-64. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.09.025>
26. Coelho J., Veiga J., Karmali A., Nicolai M., Pinto Reis C., Nobre B., Palavra A. Supercritical CO<sub>2</sub> extracts and volatile oil of basil (*Ocimum basilicum L.*) comparison with conventional methods. *Separations.* 2018;5(2):21-33. <https://doi.org/10.3390/separations5020021>
27. Sibirtsev V.S. Study of applicability of the bifunctional system “Ethidium bromide + Hoechst-33258” for DNA analysis. *Biochemistry (Moscow).* 2005;70(4):449-457. <https://doi.org/10.1007/s10541-005-0136-x>
28. Sibirtsev V.S. Fluorescent DNA probes: study of mechanisms of changes in spectral properties and features of practical application. *Biochemistry (Moscow).* 2007;72(8):887-900. <https://doi.org/10.1134/S0006297907080111>
29. Sibirtsev V.S., Naumov I.A., Kuprina E.E., Olekhovich R.O. Use of impedance biotesting to assess the actions of pharmaceutical compounds on the growth of microorganisms. *Pharmaceut. Chem. J.* 2016;50(7):481-485. <https://doi.org/10.1007/s11094-016-1473-3>
30. Sibirtsev V.S. Biological test methods based on fluorometric genome analysis. *J. Opt. Technol.* 2017;84(11):787-791. <https://doi.org/10.1364/JOT.84.000787>
31. Sibirtsev V.S., Maslova A.Yu. Complex research of *E.coli* vital activity dynamics in presence of transition metal ions. *Sci. Tech. J. Inf. Technol. Mech. Opt.* 2019;19(2):236-241. <https://doi.org/10.17586/2226-1494-2019-19-2-236-241>
32. Sibirtsev V.S., Uspenskaya M.V., Garabadiu A.V., Shvets V.I. An integrated method of instrumental microbiotesting of environmental safety of various products, wastes, and territories. *Dokl. Biol. Sci.* 2019;485(1):59-61. <https://doi.org/10.1134/S001249661902011X>
33. Sibirtsev V.S., Garabadiu A.V., Shvets V.I. New technique for integrated photofluorescence microbiotesting. *Dokl. Biol. Sci.* 2019;489(6):196-199. <https://doi.org/10.1134/S0012496619060103>
34. Korn G., Korn T. Mathematical Handbook for Scientists and Engineers. Definitions, Theorems and Formulas for Reference and Review. NY: McGraw Hill Book Company; 1968. 1152 p.
35. Johnson K., Jeffi V. Numerical Methods in Chemistry. Cambridge University Press; 1983. 503 p.
36. Sibirtsev V. S. Analysis of benzo[a]pyrene deactivation mechanisms in rats. *Biochemistry (Moscow).* 2006;71(1):90-98. <https://doi.org/10.1134/S0006297906010147>
37. Zhuravlev O.E., Voronchikhina L.I. Synthesis and antimicrobial activity of *N*-decylpyridinium salts with inorganic anions. *Pharmaceut. Chem. J.* 2018;52(4):312-315. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1813-6>
38. Luzhnova S.A., Tyrkov A.G., Gabitova N.M., Yurtaeva E.A. Synthesis and antimicrobial activity of 5-(arylmethylidene)-2,4,6-pyrimidine-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triones. *Pharmaceut. Chem. J.* 2018;52(6):506-509. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1849-7>

#### Об авторах:

**Сибирцев Владимир Станиславович**, кандидат химических наук, доцент, заведующий лабораторией разработки технологий и рецептур пищевых ингредиентов Всероссийского научно-исследовательского института пищевых добавок (191014, Россия, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55). E-mail: vs1969r@mail.ru. Scopus Author ID 6603964394, <https://orcid.org/0000-0003-0829-5213>

**Нечипоренко Ульяна Юрьевна**, младший научный сотрудник Всероссийского научно-исследовательского института пищевых добавок (191014, Россия, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55). E-mail: unechiporenko@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-4102-1129>

#### About the authors:

**Vladimir S. Sibirtsev**, Cand. of Sci. (Chemistry), Associate Professor, Head of the Laboratory of Development of Technologies and Formulations of Food Ingredients, All-Russian Research Institute for Food Additives (55, Liteyniy pr., Saint Petersburg, 191014, Russia). E-mail: vs1969r@mail.ru. Scopus Author ID 6603964394, <https://orcid.org/0000-0003-0829-5213>

**Ulyana Yu. Nechiporenko**, Junior Researcher, All-Russian Research Institute for Food Additives (55, Liteyniy pr., Saint Petersburg, 191014, Russia). E-mail: unechiporenko@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0002-4102-1129>

Поступила: 13.10.2020; получена после доработки: 16.11.2020; принята к опубликованию: 30.11.2020.  
The article was submitted: October 13, 2020; approved after reviewing: November 16, 2020; accepted for publication: November 30, 2020.