



ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ
Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет
The Far Eastern State Technical Fisheries University

НАУЧНЫЕ ТРУДЫ ДАЛЬРЫБВТУЗА

Scientific Journal of DALRYBVTUZ Vol. 42

Том

42

Адрес редакции:
Россия, 690087, Владивосток,
ул. Луговая, 526
телефон/факс: (423) 244-11-76
e-mail: nauch-tr@dgtru.ru
сайт: <http://nauch-tr.dgtru.ru>

2017

Научные труды Дальрыбвтуза. 2017. Т. 42

Сборник научных статей

Издается с 1996 г.

Выходит 4 раза в год

Учредитель и издатель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет». Адрес: Россия, 690087, Владивосток, ул. Луговая, 52б; e-mail: nauch-tr@dgtru.ru

Главный редактор – Н.Н. Ковалев, доктор биологических наук

Научный редактор – В.Д. Богданов, доктор технических наук, профессор

Ответственный секретарь – Т.В. Ломакина, начальник редакционно-издательского отдела

Редакционная коллегия:

Т.Н. Пивненко, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»;

Т.Е. Буторина, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»;

В.В. Плотников, доктор географических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»;

Нгуен Ву Тхань, профессор, доктор наук, Департамент нематодологии Института экологии и биологических ресурсов Вьетнамской академии наук и технологий (ВАНТ);

О.Н. Кручинин, доктор технических наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «ТИНРО-Центр»;

О.А. Иванов, доктор биологических наук, зав. лабораторией прикладной биоценологии ФГБНУ «ТИНРО-Центр»;

Ю.А. Кузнецов, доктор технических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»;

Чан Яцин, профессор, доктор наук, директор колледжа рыболовства и биологических наук Даляньского океанического университета;

А.Н. Соболенко, доктор технических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»;

Б.И. Руднев, доктор технических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»;

Г.П. Кича, доктор технических наук, профессор, ФГБОУ ВО «МГУ им. адм. Г.И. Невельского»;

Э.Н. Ким, доктор технических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»;

В.А. Гроховский, доктор технических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Мурманский ГТУ»;

С.А. Бредихин, доктор технических наук, профессор, ФГБОУ ВПО «МГУПБ»;

Ю.А. Фатыхов, доктор технических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Калининградский ГТУ»

Технический секретарь – Е.В. Денисова, заместитель начальника научного управления

СОДЕРЖАНИЕ

ИХТИОЛОГИЯ. ЭКОЛОГИЯ	5
Жадько Е.А., Чусовитина С.В., Стеблевская Н.И., Полякова Н.В. Макро- и микроэлементы в тканях некоторых видов асцидий залива Петра Великого (Японское море).....	5
Чусовитина С.В., Жадько Е.А., Стеблевская Н.И., Полякова Н.В. Распределение некоторых макро- и микроэлементов в органах южной палтусовидной камбалы залива Петра Великого (Японское море).....	10
Ткаченко Г.М., Грудневская Й., Пенкала А. Изменения в антиоксидантной защите сердца радужной форели (<i>Oncorhynchus mykiss</i> Walbaum) в первый месяц после вакцинации против <i>Yersinia ruckeri</i>	17
Ткаченко Г.М., Буюн Л.И., Терех-Маевская Э., Осадовский З. Скрининг антимикробной активности этанольного экстракта, полученного из листьев <i>Ficus tuciso</i> Welw. ex Ficalho (Moraceae), относительно бактериальных патогенов рыб.....	25
ПРОМЫШЛЕННОЕ РЫБОЛОВСТВО. АКУСТИКА	37
Бакланов Е.Н., Мироненко М.В., Стародубцев П.А., Стародубцев Е.П. Горизонтально развитая радиогидроакустическая система мониторинга гидрофизических и геофизических полей объектов и морской среды	37
Мироненко М.В., Стародубцев П.А., Бакланов Е.Н. Кратко об особенностях передачи информации из атмосферы в морскую среду и обратно	46
СУДОВЫЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ УСТАНОВКИ, УСТРОЙСТВА И СИСТЕМЫ, ТЕХНИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА СУДОВОЖДЕНИЯ, ЭЛЕКТРООБОРУДОВАНИЕ СУДОВ	56
Недбайлов А.А. Компьютерные модели элементов автоматики на мобильных устройствах в учебном процессе	56
ТЕХНОЛОГИЯ И УПРАВЛЕНИЕ КАЧЕСТВОМ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	62
Богданов В.Д., Максимова С.Н., Тунгусов Н.Г., Шадрина Е.В., Панчишина Е.М. Обоснование комбинированной технологии кормовой добавки из морских звезд	62
Есипенко Р.В., Довженко Н.В., Ковалев Н.Н. Антиоксидантная активность ферментализатов некоторых видов двустворчатых моллюсков	68
Михеев Е.В., Позднякова Ю.М., Ковалев Н.Н. Сезонная динамика некоторых биохимических показателей мидии Грея.....	74
Пивненко Т.Н., Бунтуш А.Е. Экспериментальное обоснование микрокапсулирования масляного экстракта каротиноидов из туники асцидии пурпурной	82
Позднякова Ю.М., Пивненко Т.Н. Обоснование технологии комбинированных молочных продуктов с добавлением БАВ гидробионтов	90
Бойцова Т.М., Антоненко О.М. Анализ рынка мясных полуфабрикатов: возможности и перспективы.....	99

CONTENTS

ICHTHYOLOGY. ECOLOGY	5
<i>Zhadko E.A., Chusovitina S.V., Steblevskaya N.I., Polyakova N.V.</i> Macro- and micro elements in tissues of some species of ascidians of Peter the Great bay (sea of Japan)	5
<i>Chusovitina S.V., Zhadko E.A., Steblevskaya N.I., Polyakova N.V.</i> Distribution of some macro and micro elements in the organs of the flathead flounder of the gulf of Peter the Great (sea of Japan).....	10
<i>Tkachenko Halyna, Grudniewska Joanna, Pękala Agnieszka.</i> One-month alteration in the antioxidant defense in the heart of rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i> Walbaum) vaccinated against <i>Yersinia ruckeri</i>	17
<i>Tkachenko Halyna, Buyun Lyudmyla, Terech-Majewska Elżbieta, Osadowski Zbigniew.</i> Screening for antimicrobial activities of the ethanolic extract derived from <i>Ficus mucoso</i> Welw. ex Ficalho leaves (Moraceae) against bacterial fish pathogens.....	25
INDUSTRIAL FISHERIES. ACOUSTICS	37
<i>Baklanov E.N., Mironenko M.V., Starodubtcev P.A., Starodubtcev E.P.</i> Horizontally developed radiohydroacoustic system of monitoring of hydrophysical and geophysical fields of objects and marine environment	37
<i>Mironenko M.V., Starodubtcev P.A., Baklanov E.N.</i> Briefly about the features of information transmission from atmosphere to the marine environment and back.....	46
SHIP POWER PLANTS, EQUIPMENT AND SYSTEMS, SHIP NAVIGATION FACILITIES, SHIP ELECTRICAL FACILITIES	56
<i>Nedbaylov A.A.</i> Computer models of automation components on mobile devices in the educational process	56
TECHNOLOGY AND QUALITY CONTROL OF FOOD PRODUCTS	62
<i>Bogdanov V.D., Maksimova S.N., Tungusov N.G., Shadrina E.V., Panchishina E.M.</i> The rational of combined technology of the feed additive from the sea stars	62
<i>Esipenko R.V., Dovjenko N.V., Kovalev N.N.</i> Antioxidant activity of some molluscs species fermentolysates.....	68
<i>Mikheev E.V., Pozdnyakova Yu.M., Kovalev N.N.</i> Seasonal dynamics of some biochemical parameters of Gray mussel	74
<i>Pivnenko T.N., Buntush A.E.</i> Experimental foundation of microcapsulation of oil extract of carotinoids from tunics of purple ascidian.....	82
<i>Pozdnyakova Yu.M., Pivnenko T.N.</i> The substantiation of combined lactic products technology with adding BAS of hydrobionts.....	90
<i>Boitsova T.M., Antonenko O.M.</i> Analysis of the market of meat semi-finished products: opportunities and prospects	99

ИХТИОЛОГИЯ. ЭКОЛОГИЯ

УДК 557.170.49:594.11:577.118

Е.А. Жадько¹, С.В. Чусовитина¹, Н.И. Стеблевская^{1,2}, Н.В. Полякова²

¹Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

²Институт химии ДВО РАН,
690022, г. Владивосток, пр. 100-летия Владивостоку, 159

МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТЫ В ТКАНЯХ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ АСЦИДИЙ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО (ЯПОНСКОЕ МОРЕ)

Изучен химический состав туники и мантии асцидии стиилы булавовидной, болтении колючей и ционы интестиналис зал. Петра Великого (Японское море). Выявлены существенные видовые различия в накоплении туникой и мантией указанных видов асцидий макро- и микроэлементов. Уровень содержания элементов у болтении колючей в целом в несколько раз выше, чем у стиилы булавовидной, наиболее высоких значений достигают концентрации серы, кальция и железа. У ционы интестиналис уровень концентрации микроэлементов значительно ниже по сравнению с двумя другими видами асцидий, в тканях преобладают бром и железо.

Ключевые слова: макроэлементы, микроэлементы, туника, мантия, асцидии.

E.A. Zhadko¹, S.V. Chusovitina¹, N.I. Steblevskaya^{1,2}, N.V. Polyakova²

MACRO- AND MICRO ELEMENTS IN TISSUES OF SOME SPECIES OF ASCIDIANS OF PETER THE GREAT BAY (SEA OF JAPAN)

Chemical composition of tunic and cloak of an ascidian Styela clava, Boltenia echinata, and Ciona intestinalis of Peter the Great Bay (Sea of Japan) is studied. Substantial specific differences are educed in an accumulation macro- and microelements by a tunic and cloak of the indicated spesies of ascidias. Level of maintenance of elements at Boltenia echinata on the whole in several times is higher, that at Styela clava, concentration of sulphur, calcium and iron arrives at the most high values. At Ciona intestinalis the concentration of microelements considerably below as compared to other types of ascidias, a bromine and iron prevail in tissues.

Key words: macroelements, microelements, tunic, clock, ascidian.

Введение

Современная экологическая ситуация в Мировом океане характеризуется многофакторностью и неравномерностью воздействия человека на морские экосистемы и биоресурсы. Тревожной чертой этой глобальной картины является совпадение областей повышенной биопродуктивности с районами наиболее сильного антропогенного пресса [1]. Антропогенные факторы, действующие на морские экосистемы, разнообразны и, как правило, имеют комплексный характер и множественные экосистемные последствия. Устойчивость водных экосистем в значительной мере зависит от эффективности трофических взаимоотношений гидробионтов. При этом тепловое загрязнение, закисление водоемов, а также токсичные отходы производства и вызываемый ими стресс становятся лимитирующими факторами для функционирования водных сообществ [2].

Одной из составляющих мониторинговых исследований антропогенного воздействия на морские экосистемы является изучение микроэлементного состава гидробионтов. Важное место в биогенной миграции микроэлементов в морских биогеоценозах занимают организмы – концентраторы. Выяснено, что содержание микроэлементов в тканях некоторых двустворчатых моллюсков, микро- и макроводорослей и морских трав отражает распределение этих элементов в морской среде. Известны экологические группы двустворчатых моллюсков, которые аккумулируют микроэлементы в количестве до 105 % от их содержания в среде обитания. Такая способность отдельных видов адекватно отражать ситуацию в среде, распространенность и малая миграционная активность позволяют использовать их в качестве биоиндикаторных организмов [3].

Асцидии – животные, принадлежащие к типу хордовых, подтипу оболочников, фильтраторы, ведущие прикрепленный образ жизни, образующие одиночные и колониальные формы, наряду с двустворчатыми моллюсками являются одним из функциональных звеньев морских экосистем, через которые проходят потоки микроэлементов с последующим их отложением в донные осадки. Эти гидробионты способны к избирательному накоплению высоких концентраций ванадия и некоторых других микроэлементов [4, 5]. Химический состав этих животных характеризуется наличием специфических, характерных только для них компонентов из разряда пептидов, каротиноидов, алкалоидов и углеводов [6, 7, 8, 9]. В настоящее время известно более 100 видов асцидий, обитающих в дальневосточных и арктических морях, из них около 35 обитают в зал. Петра Великого [10]. Однако до сих пор практически не изучены индикаторные свойства этих гидробионтов. Биотехнологический и биогенный потенциал асцидий представляет значительный интерес и еще не получил объективной оценки.

Объекты и методы исследований

Изучен состав химических элементов асцидии стиелы булавовидной (*Styela clava*), болтении колючей (*Boltenia echinata*) и циюны интестиналис (*Ciona intestinalis*), отобранных в бухте Северной зал. Славянка и бухте Балка северо-восточной части о. Русский. Для исследования использовали тунику и мантию (кожно-мускульный мешок) асцидий. Всего анализу подвергнуто по 30 проб органов и тканей каждого вида гидробионтов. Пробоподготовка осуществлялась в соответствии с рекомендациями [11]: образцы помещали в тефлоновые автоклавы, добавляли смесь азотной и соляной кислот (1 : 2) и разлагали в микроволновом реакторе Milestone UltraClave (Италия) 60 мин при 200 °С и давлении 60 атмосфер. Элементный анализ подготовленных растворов проб проводили рентгенофлуоресцентным методом с полным внешним отражением (TXRF) на приборе TXRF 8030 C (FEI Company, Germany). Пробу объемом 10 мкл наносили на подложку из полированного кварцевого стекла. Время измерения – 500 с, источники возбуждения – MoK_α и WBr_{35} . Внутренний стандарт – раствор иттрия с концентрацией 50 мкг/мл. Предел обнаружения варьирует для различных элементов в пробах от 10^{-7} до 10^{-10} %.

Результаты и их обсуждение

Изучен химический состав тканей асцидии стиелы булавовидной, болтении колючей и циюны интестиналис. Ряды убывания концентраций элементов в тканях исследованных видов выглядят следующим образом:

Туника

$\text{Ca} > \text{S} > \text{Fe} > \text{P} > \text{K} > \text{Ti} > \text{Ba} > \text{Br} > \text{Sr} > \text{Mn} > \text{Zn} > \text{As} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Ni} > \text{Rb} > \text{Se}$ – Стиела булавовидная

$\text{Fe} > \text{Ca} > \text{S} > \text{P} > \text{K} > \text{Mn} > \text{Br} > \text{Sr} > \text{Ti} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Ba} > \text{As} > \text{Ni} > \text{Rb}$ – Болтения колючая

$\text{Br} > \text{Sr} > \text{Fe} > \text{Mn} > \text{Zn} > \text{Ca} > \text{Cu} > \text{Ni} > \text{As} > \text{Mo} > \text{S} > \text{Rb} > \text{Se} > \text{P}$ – Циона интестиналис

Мантия

Ca > Fe > S > K > P > Sr > Zn > Ti > Br > Mn > Cu > Ba > Pb > Rb > Ni > Se > As – Стиела була-
вовидная

Ca > S > Fe > K > P > Sr > Br > Zn > Sr > Ti > Mn > Ba > Cu > Rb > Ni > Pb > Se > As – Болтения
колючая

Fe > Br > Zn > Mn > Sr > Ni > Cu > As > Mo > S > P > Se > Rb > K > Ca – Циона интестиналис

Наши исследования выявили существенные видовые различия в накоплении туникой и мантией указанных видов асцидий макро- и микроэлементов (таблица).

Средние концентрации элементов в тканях асцидий (мкг/г воздушно-сухой массы)

Average concentration of elements in tissues of ascidians (mkg/g air dry mass)

Элемент	Стиела булавовидная <i>Styela clava</i>		Болтения колючая <i>Boltenia echinata</i>		Циона интестиналис . <i>Ciona intestinalis</i>	
	Туника	Мантия	Туника	Мантия	Туника	Мантия
P	714,7±801,7	309,9±189	659±307	1093±478	0,21±0,53	0,87±0,43
S	1461,9±850,6	557,6±317	2661±498	2341±354	0,45±0,65	0,89±0,76
K	492,9±458	322,7±211	455±306	1337±487	0,29±0,14	0,39±0,16
Ca	1566,6±1434	1272,4±576	4307±472	5330±674	0,82±0,19	0,38±0,13
Ti	408,6±967,3	18,2±7,3	70,2±43,4	91,3±21,6	0	0
Mn	27,5±31,4	5,4±2,7	308±112,4	40,7±11,6	8,56±3,31	13±3,94
Fe	728,1±743,9	752±735	4998±1342	2125±461	12,5±6,78	78,1±25,9
Ni	1,3±0,61	1,1±0,48	4,2±5,9	7,29±5,5	0,61±0,15	1,7±0,84
Cu	5,7±6,04	4,3±4,7	17,1±8,9	21,3±13,9	0,68±0,29	1,66±0,99
Zn	20,9±8,6	20,8±14,0	62,2±51,5	113,7±88,6	5,74±2,6	14,9±2,98
As	11,4±23,7	0,6±0,46	5,9±2,8	2,6±0,96	0,61±0,33	1,21±0,37
Se	0,4±0,37	0,6±0,33	0	2,6±0,25	0,31±0,11	0,59±0,44
Br	38,4±19,6	11,5±7,5	204±119,6	118,8±48,9	46,1±0,81	50±31,8
Rb	1,2±1,0	1,5±0,83	2,1±1,9	8,4±3,11	0,37±0,15	0,54±0,28
Sr	34,5±23,2	22,8±14,45	71,1±33,8	137±52,6	17,2±4,11	10,2±3,11
Mo	0	0	0	0	0,58±0,22	0,9±0,62
Ba	149,1±180	3,9±3,04	8,8±2,1	34,9±11,8	0	0
Pb	4,0±2,3	2,3±0,6	14,9±5,9	6,5±1,3	0	0
Zr	0	0	0	0	0,57±0,21	0

У асцидий стиелы и болтении, которые имеют плотную тунику, в группу преобладающих по концентрации элементов входят кальций, железо, сера, фосфор и калий, в то время как в студенистой тунике ционы основу составляют бром, стронций, железо, марганец и цинк (рис. 1). Необходимо отметить, что уровни содержания этих элементов у асцидий резко различаются. Так, у болтении средние концентрации кальция, серы и железа очень высоки и составляют 4307, 2661 и 4998 мкг/г соответственно, т.е. вдвое и более превышают таковые у стиелы, и только уровни содержания фосфора и калия у этих двух видов имеют сходные значения, варьируя в пределах 714,8 – 455 мкг/г. В тунике ционы концентрации этих элементов ничтожно малы по сравнению с данными у первых двух видов

асцидий и изменяются от 12,2 до 0,2 мкг/г. Следует отметить, что у болтении уровень содержания микроэлементов в целом в несколько раз выше, чем у стиелы, исключение составляют титан и барий, концентрации которых у стиелы на порядок выше, а также мышьяк, которого в тунике стиелы вдвое больше, чем у болтении. У ционы уровень содержания брома достигает 46,1 мкг/г, стронция – 17,2, марганца – 8,56, цинка – 5,7 мкг/г, что значительно выше по сравнению с остальными микроэлементами, концентрации которых варьируют от 0,3 до 0,7 мкг/г. В отличие от других видов асцидий, в тунике ционы обнаружен молибден и цезий, но отсутствует титан, барий и свинец.

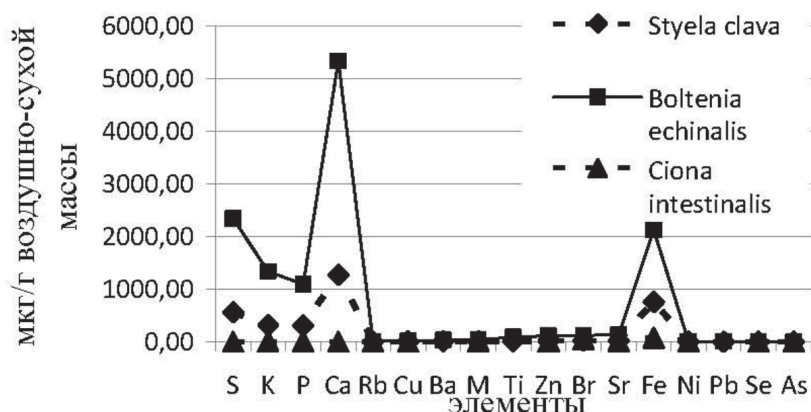


Рис. 1. Распределение макро- и микроэлементов в тунике асцидий
Fig. 1. The distribution of macro- and microelements in a tunic of ascidians

В мантии исследованных видов асцидий так же, как и в тунике, группу преобладающих по концентрации элементов составили: у стиелы и болтении – кальций, железо, сера, калий и фосфор, у ционы – железо, бром, цинк, марганец и стронций (рис. 2). В мантии болтении так же, как и в тунике, уровни средних концентраций этих элементов в несколько раз превышают таковые у стиелы, изменяясь в пределах от 5330 до 1093 мкг/г. В мантии ционы диапазон преобладающих по концентрации элементов составил всего 0,38–0,89 мкг/г. У всех трех видов асцидий уровень содержания железа в мантии был самым высоким по сравнению с другими микроэлементами и составил у болтении 2125, у стиелы – 752 и у ционы – 78,1 мкг/г. В целом в мантии болтении так же, как и в тунике, концентрации остальных микроэлементов в несколько раз выше, чем у стиелы. У ционы концентрации микроэлементов значительно ниже по сравнению с двумя другими видами асцидий и варьируют в пределах от 50 до 0,54 мкг/г.

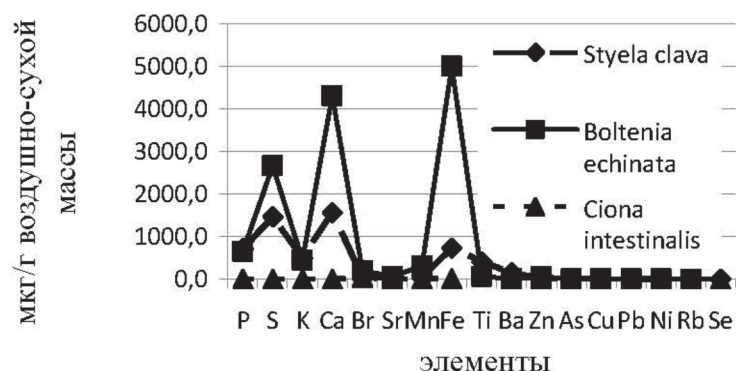


Рис. 2. Распределение макро- и микроэлементов в мантии асцидий
Fig. 2. The distribution of macro- and microelements in a cloak of ascidians

Таким образом, полученные нами данные о составе и распределении макро- и микроэлементов в тканях асцидии стиелы булавовидной, болтении колючей и циюны кишечника представляют определенный интерес, поскольку могут быть использованы при разработке новых технологий лекарственных препаратов и биологически активных добавок и изучении биоиндикаторных свойств этих организмов.

Список литературы

1. Патин, С.А. Антропогенное воздействие на морские экосистемы и биоресурсы: источники, последствия, проблемы / С.А. Патин // Тр. ВНИРО. – 2015. – Т. 154. – С. 85–104.
2. Одум, Ю. Экология / Ю. Одум. – М.: Мир, 1986. – Т. 1. – 76 с.
3. Христофорова, Н.К. Биоиндикация и мониторинг загрязнения морских вод тяжелыми металлами: монография / Н.К. Христофорова. – Л.: Наука, 1989. – 192 с.
4. Резаева, Л.Т. Валентное состояние ванадия и его роль в организме асцидии: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Л.Т. Резаева. – М., 1963. – 25 с.
5. Манская, С.М. Геохимия органического вещества / С.М. Манская, Т.В. Дроздова. – М.: Наука, 1964. – 314 с.
6. Jang, W.S. Halocidin: a new antimicrobial peptide from hemocytes of the solitary tunicate, *Halocynthia aurantium* / W.S. Jang, K.N. Kim, Y.S. Lee, M.H. Nam, H. Lee // 2002. FEBS Lett. – Vol. 521. – P. 81–86.
7. Белорукова, А.А. Оценка содержания каротиноидов у асцидий *Halocynthia aurantium* и *Styela clava* / А.А. Белорукова, П.А. Задорожный, Т.Н. Пивненко, Е.В. Якуш // Изв. ТИНРО. – 2006. – Т. 147. – С. 347–353.
8. Еляков Г.Б., Стоник В.А. Морская биоорганическая биохимия – основа морской биотехнологии // Изв. Академии наук. Сер. химическая. – 2003. – №1. – С. 1–18.
9. Agrawal, M. Alkaloids and peptides from Australian sponges and Ascidians / M. Agrawal, B. Bowden, B. McCool, R. Willis // International symposium on marine drugs. – 2004.
10. Адрианов, А.В. Таксономический каталог биоты залива Петра Великого Японского моря / А.В. Адрианов. – Владивосток: Дальнаука, 1998. – 350 с.
11. Бок, Р. Методы разложения в аналитической химии / Р. Бок. – М.: Химия, 1984. – 432 с.

Сведения об авторах: Жадько Елена Александровна, кандидат биологических наук, доцент, e-mail: zhadko.helen@gmail.com;

Чусовитина Светлана Васильевна, кандидат биологических наук, доцент, e-mail: chusovitinasv@mail.ru;

Стеблевская Н.И., доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории переработки минерального сырья, e-mail: steblevskaya@ich.dvo.ru;

Полякова Н.В., кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярного и элементного анализа.

УДК 557.170.49:594.11:577.118

С.В. Чусовитина¹, Е.А. Жадко¹, Н.И. Стеблевская^{1,2}, Н.В. Полякова²¹Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б²Институт химии ДВО РАН,
690022, г. Владивосток, пр. 100-летия Владивостоку, 159**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ОРГАНАХ
ЮЖНОЙ ПАЛТУСОВИДНОЙ КАМБАЛЫ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО
(ЯПОНСКОЕ МОРЕ)**

Изучено содержание некоторых макро- и микроэлементов в мышечной ткани, коже, жабрах, половой железе и печени камбалы *H. dubius*. В печени выявлены максимальные концентрации железа, меди, селена, в гонадах – цинка, в костной ткани – марганца, в жабрах – брома. Хром обнаружен только в коже и мышечной ткани этого вида. Концентрация As, Zn, Cu, Cd в органах *H. dubius* не превышает их ПДК.

Ключевые слова: микроэлементы, камбала южная палтусовидная *Hippoglossoides dubius*, печень, кожа, жабры, гонада, кость, мышцы.

**S.V. Chusovitina¹, E.A. Zhadko¹, N.I. Steblevskaya^{1,2}, N.V. Polyakova²
DISTRIBUTION OF SOME MACRO AND MICRO ELEMENTS IN THE ORGANS
OF THE FLATHEAD FLOUNDER
OF THE GULF OF PETER THE GREAT (SEA OF JAPAN)**

The maintenance of some macro- and microelements in muscle tissue, skin, gills, gonads and liver of flounder *H. dubius* were studied. In liver the maximum concentrations of iron, copper, selenium, in gonads – zinc, in bone tissue – manganese, in the gills – bromine were detected. Chromium is found only in the skin and muscle tissue of this species. The concentration of As, Zn, Cu, Cd in the organs of *H. dubius* does not exceed the maximum possible concentration.

Key words: microelements, flounder southern halibut *H. dubius*, liver, skin, gills, gonad, bone, muscles.

Введение

В зависимости от динамики химического состава среды у рыб могут регулироваться физиологические процессы, микроэлементы избирательно концентрироваться или активно выводиться из организма. Наиболее очевидным это становится при интродукции гидробионтов или увеличении антропогенной нагрузки на акваторию. Нарушение фонового химизма воды прежде всего сказывается на ходе развития эмбрионов, выживаемости личинок, росте молоди. Уровень содержания микроэлементов во взрослых организмах определяется многими факторами, среди которых такие биолого-экологические характеристики видов, как приуроченность к определенному биотопу, миграционная способность, характер питания, возраст и др. Ихтиоцен зал. Петра Великого включает более 300 видов рыб, исследование концентраций микроэлементов в органах и тканях которых важно для контроля за экологическим состоянием водоёма, а у промысловых видов – и для оценки степени безопасности как пищевого сырья.

Целью настоящей работы являлась характеристика особенностей распределения и уровней содержания некоторых макро- и микроэлементов (S, P, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Se, Sr, As, Pb, Rb, Cd) в органах и тканях южной палтусовидной камбалы *Hippoglossoides dubius* Амурского залива (зал. Петра Великого, Японское море).

Объекты и методы исследований

Объектом исследований были органы и ткани камбалы *Hippoglossoides dubius*, пойманной в Амурском заливе в марте 2016 г. Для исследования взяты кусочки мышечной ткани туловища, жабр, печени, кожи, позвонков и гонад. Всего анализу подвергнуто в

среднем по 60 проб органов и тканей. Пробоподготовка осуществлялась в соответствии с рекомендациями [1, 2]: образцы помещали в тefлоновые автоклавы, добавляли смесь азотной и соляной кислоты (1 : 2) и разлагали в микроволновом реакторе Milestone UltraClave (Италия) 60 мин при 200 °С и давлении 60 атмосфер. Элементный анализ подготовленных растворов проб проводили рентгенофлуоресцентным методом с полным внешним отражением (TXRF) на приборе TXRF 8030 C (FEI Company, Germany). Пробу объемом 10 мкл наносили на подложку из полированного кварцевого стекла. Время измерения – 500 с, источники возбуждения – MoK α и WBr35. Внутренний стандарт – раствор иттрия с концентрацией 50 мкг/мл. Предел обнаружения варьирует для различных элементов в пробах от 10⁻⁷ до 10⁻¹⁰ %.

Результаты и их обсуждение

Пути проникновения химических элементов в организм, закономерности их распределения и аккумуляции в органах и тканях рыб исследуются с привлечением данных по пресноводным, проходным и морским видам разной пищевой специализации. Крайне ограничены сведения об особенностях этих процессов у морских рыб, особой разного пола. В марте 2016 г. взяты для исследований ткани и органы готовящихся к нересту самок южной палтусовидной камбалы. Рыбы в момент поимки имели пустые или почти пустые желудки.

Южная палтусовидная камбала – промысловый вид, относящийся к мезобентально-элиторальной группировке, широко распространенный у побережья Приморья [3]. Обитая в диапазоне глубин от 25 до 1200 м, весной, для нагула и нереста, камбала мигрирует на шельф. По данным В.И. Чучукало [4], в спектре питания вида более 10 таксономических групп беспозвоночных животных и рыб. Состав основных кормовых объектов меняется не только с сезоном, но и в связи с местом обитания, возрастом и размером. Летом в рационе преобладают ракообразные (гаммариды, кумовые, креветки), двусторчатые моллюски и полихеты, зимой – офиуры.

Такие биологически важные элементы, как фосфор и кальций являются основой костной ткани, в ней у южной палтусовидной камбалы и выявлены максимальные концентрации этих элементов (рис. 1). В мышечной ткани концентрации фосфора и кальция относительно невелики, но зарегистрированы наибольшие средние показатели калия, ионы которого участвуют в поддержании осмотического давления, в генерации и проведении биоэлектрических потенциалов, активируют некоторые ферменты. Сера, входящая в состав белков, ферментов и витаминов, проникает в организм преимущественно через кожные покровы, где ее количество в среднем превышало 2500 мг/кг.

Фосфор, сера, калий и кальций выявлены во всех образцах, взятых для изучения. Изменчивость концентрации макроэлементов в органах южной палтусовидной камбалы значительна (таблица). Максимальная вариабельность содержания серы характерна для костной ткани (почти в 3 раза), фосфора и кальция – для жабр (в 3 и 5 раз), калия – для гонад (в 3 раза), кальция – для мышц и печени (в 8 раз).

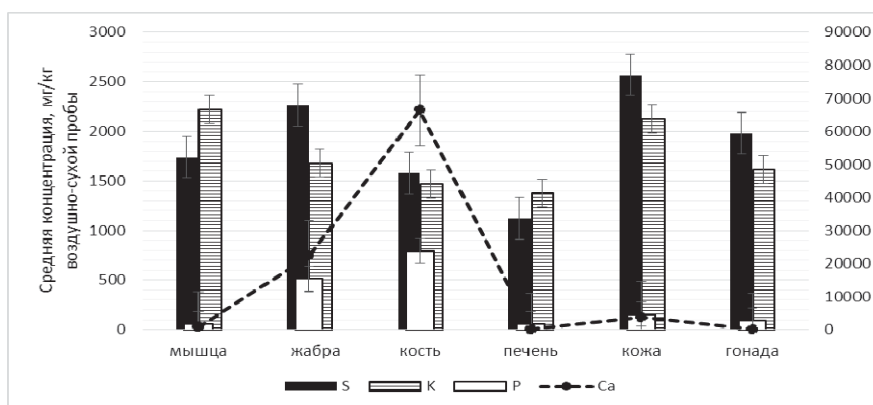


Рис. 1. Распределение S, P, K, Ca в тканях камбалы *H. dubius*. Примечание: по дополнительной шкале средние концентрации Ca Fig. 1. The distribution of S, P, K, Ca in the tissues of the flounder *H. dubius*. Note: on an additional scale, the average concentrations of Ca

**Диапазоны концентрации элементов в органах камбалы *H. dubius* зал. Петра Великого (мг/кг воздушно-сухой массы)
Concentration ranges of elements in the organs of flounder *H. dubius* hall. Peter the Great (mg / kg air-dry mass)**

Образец	S	P	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Br	Sr	As	Pb	Se	Rb	Cd
Мышца	1363-2114	1191-2017	1740-2701	196-1638	0-10,96	0-2,47	6,50-70,59	0-17,81	0,68-1,52	3,43-20,76	1,64-5,3	0,614-8,377	2,62-4,668	0,139-0,245	0,384-0,61	0,325-0,65	0
Жабра	1420-3202	7347-22922	1137-2310	6996-33342	0	3,36-14,74	63,13-107,15	1,77-162,23	1,802-3,68	16,84-47,29	7,35-16,14	22,9-144,56	1,17-1,54	0,403-2,43	0,611-1,9	0,667-1,23	0
Кость	823,6-2497	22422-48127	981-2287	39990-102977	0	10,53-14,29	34,98-63,3	0	0	16,56-25,23	2,89-7,25	108-362	2-11	0,534-0,623	0	0-2	0
Печень	712-1509	1103-2256	1103-1674	17,52-138	0	1,32-2,38	78,82-192	0	2,659-17,68	14,16-33,62	2,057-6,91	0,349-1,179	1,75-6,49	0,176-0,476	0,711-2,206	0,332-1,13	0,012-0,284
Кожа	1723-3198	3212-7582	1401-2963	2146-6431	0-7,8	0	27,41-78,97	3,66-6,799	0-2,24	9,55-32,53	4,23-10,11	1,38-30,01	2,83-3,56	0,279-0,486	0	0,752-1,56	0
Гонада	1691-2132	1798-3569	891-2873	81,81-181,46	0	1,06-1,37	11,81-20,92	0,725-1,66	0,844-3,68	23,72-65,37	2,48-3,658	0,887-0,976	0	0,095-0,153	0,42-0,541	0-0,751	0

Микроэлементы по уровню накопления в тканях и органах южной палтусовидной камбалы располагались следующим образом:

Жабры: Fe > Ni > Zn > Br > Mn > Cu > Se

Мышца: Fe > Zn > Ni > Br > Cu > Mn > Se

Печень: Fe > Zn > Cu > Br > Mn > Se

Кость: Fe > Zn > Cu > Mn > Br

Кожа: Fe > Zn > Br > Ni > Cr > Cu

Гонада: Zn > Fe > Br > Cu > Mn

В исследованных органах и тканях камбалы среди эссенциальных элементов количественно лидировало железо, ему почти вдвое уступал цинк (рис. 2). В пробах печени и костной ткани следующим элементом была медь, в других органах она занимала четвертое (гонада), пятое (мышечная ткань) или шестое место (кожа, жабры).

Высокое содержание железа, цинка и меди связано с участием этих элементов в процессах синтеза гемоглобина, кроветворения, процессах легочного и тканевого дыхания. Максимальная концентрация железа в печени, возможно, также объясняется депонированием металлов в ней и образованием гемопротеинов.

Превалирование железа ранее отмечалось у сельди, наваги, минтая и камбалы желтоперой зал. Петра Великого [5], лососевых рыб из р. Аввакумовка [6]. В органах и тканях полосатой камбалы количество железа превосходило количество других элементов только в почках, жабрах и печени, цинка – в чешуе, коже, мышцах, гонадах [7].

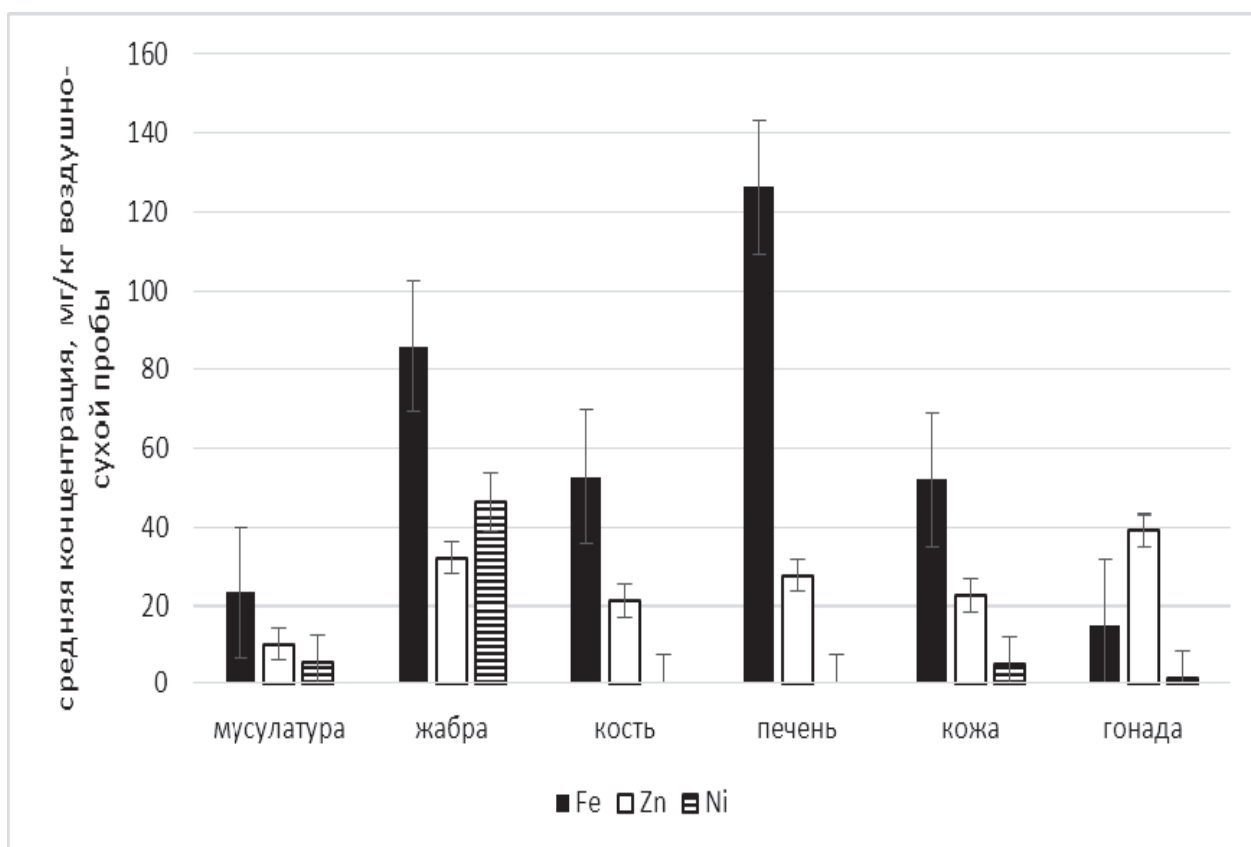


Рис. 2. Распределение Fe, Ni, Zn в тканях камбалы *H. dubius*
Fig. 2. The distribution of Fe, Ni, Zn in the tissues of the flounder *H. dubius*

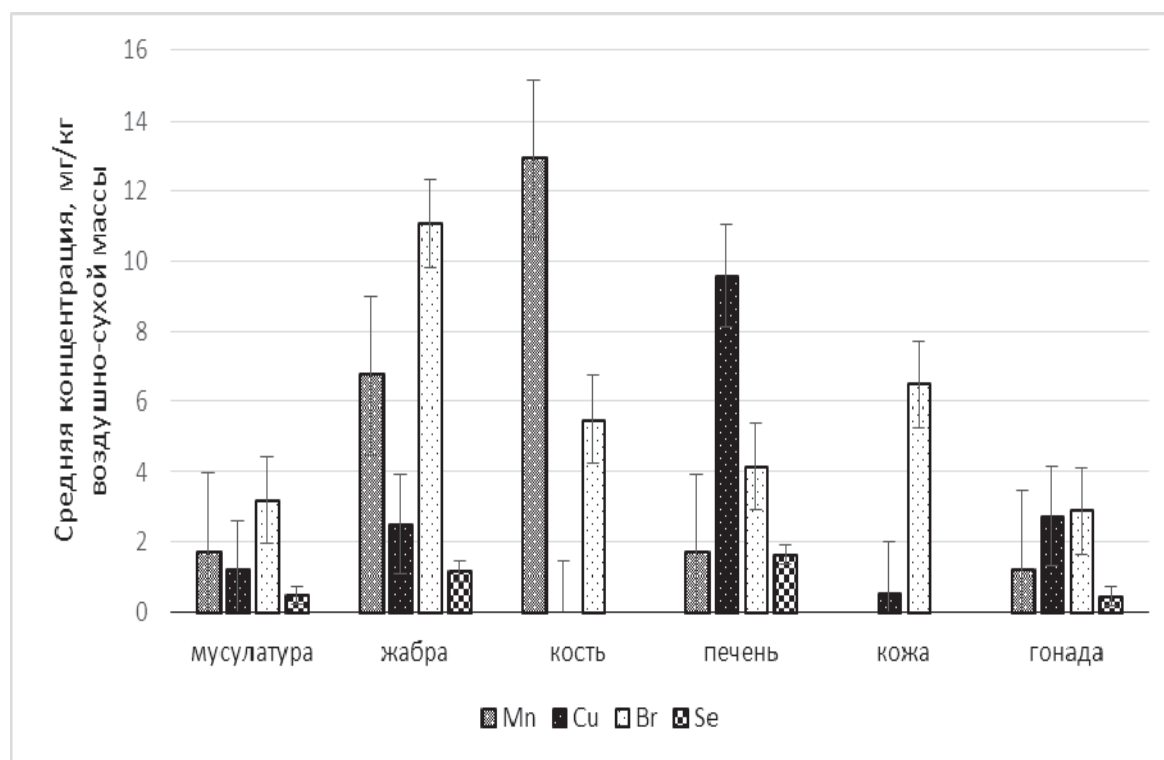


Рис. 3. Распределение Mn, Cu, Br, Se в тканях камбалы *H. dubius*
 Fig. 3. The distribution of Mn, Cu, Br, Se in the tissues of the flounder *H. dubius*

Концентрация отдельных микроэлементов в органах южной палтусовидной камбалы значительно отличалась. В целом, по уровню накопления микроэлементов органы и ткани рыб ранжировались следующим образом:

Fe: печень > жабры > кость > кожа > мускул > гонада
 Zn: гонада > жабра > печень > кожа > кость > мускул
 Cu: печень > гонада > жабра > мускул > кожа
 Mn: кость > жабра > мускул (печень) > гонада
 Br: жабра > кожа > кость > печень > мускул > гонада
 Se: печень > жабра > мускул > гонада

Концентрация железа в печени была выше в 1,5 раза по сравнению с жабрами и в 5 раз – по сравнению с мышечной тканью. В среднем содержание железа уменьшалось от 126,4 мг/кг в печени до 14,9 мг/кг в гонадах (см. рис. 2). В распределении цинка выявлена обратная тенденция. Количество цинка в гонадах в 1,2 раза уступало жабрам и почти в 4 раза – мышечной ткани. Никель обнаружен в коже, жабрах и мускулатуре. В жабрах его концентрация сильно варьировалась, в среднем превышая 46 мг/кг.

Наши результаты согласуются с данными М.В. Симоконь [8] о преимущественном накоплении железа и марганца в костях и жабрах, меди в печени полосатой камбалы. Содержание марганца в костной ткани южной палтусовидной камбалы в 8–10 раз превышало его содержание в других органах и тканях. Концентрация меди в печени изменялось от 2,659 до 17,68 мг/кг и в среднем в 8 раз превышает показатели мышечной ткани (таблица, рис. 3).

Селен входит в состав ферментов, гормонов, в какой-то мере определяет состояние антиоксидантной системы, оказывает влияние на процессы метаболизма в организме [9]. Накопление селена зависит от района обитания и образа жизни рыб. По данным Н.А. Голубкиной и др. [10], в мускулатуре донных рыб (бычки сем. Gobiidae) аккумуляция селена более выражена по сравнению с пелагическими (кильки *Clupeonella engrauliformis*, *Clupeonella*

cultriventris). В мускулатуре южной палтусовидной камбалы концентрация селена в среднем составила 0,49 мг/кг, в печени была втрое больше.

Хром выявлен только в коже (1,95 мг/кг) и мышечной ткани (2,74 мг/кг). Преимущественное аккумуляирование этого элемента в мускулатуре леща, щуки, синца Куйбышевского водохранилища отмечал А.С. Ваганов [11].

Содержание стронция в гонадах, коже, печени и мышцах южной палтусовидной камбалы было значительно меньше по сравнению с костной тканью и жабрами (см. таблицу, рис. 4). Наряду со стронцием в костной ткани выявлена предельная концентрация мышьяка. Локализация стронция и мышьяка косвенно свидетельствует о длительности процесса их накопления. Относительно высокое содержание свинца и мышьяка обнаружено в печени. Исследования Л.Т. Ковековой и др. [12, 13] выявили увеличение концентраций этого элемента в органах и тканях моллюсков и рыб Амурского залива в связи с высокой концентрацией мышьяка в грунте.

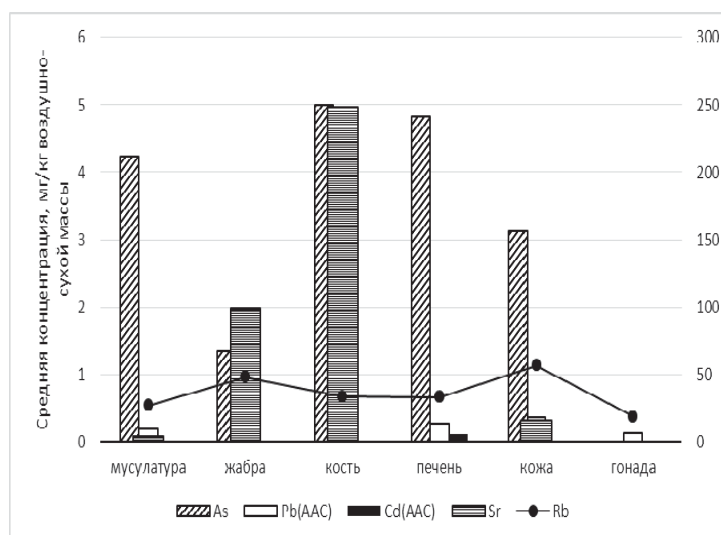


Рис. 4. Распределение Sr, As, Pb, Rb, Cd в тканях южной палтусовидной камбалы *Hippoglossoides dubius*. Примечание: Sr по дополнительной шкале

Fig. 4. The distribution of Sr, As, Pb, Rb, Cd in the tissues of the flounder *H. dubius*. Note: on an additional scale, the average concentrations of Sr

Ранее установлено влияние возраста, пола, диеты на распределение микроэлементов в органах и тканях некоторых видов рыб [14, 15, 16]. Наши исследования показали, что в преднерестовый период у самок японской палтусовидной камбалы Амурского залива в печени выявлены максимальные концентрации железа, меди, селена, в гонадах – цинка, в костной ткани – марганца, в жабрах – брома. Нормируемые элементы (Pb, Cd, As) не превышали установленных нормативов. Мышечная ткань уступала другим органам по содержанию тяжелых металлов.

Список литературы

1. Бок, Р. Методы разложения в аналитической химии / Р. Бок. – М.: Химия, 1984. – 432 с.
2. Стеблевская, Н.И. Микроэлементный состав некоторых видов родов *Lespedeza*, *Caragana* (Fabaceae) и *Patrinia* (Valerianaceae) флоры Дальнего Востока / Н.И. Стеблевская, Н.В. Полякова, М.А. Медков // Растительные ресурсы. – 2009. – № 3. – С.102–110.

3. Соломатов, С.Ф. Вертикальная зональность распределения донных рыб в водах Северного Приморья (Японское море) / С.Ф. Соломатов // Современное состояние водных биоресурсов: материалы научной конференции, посвященной 70-летию С.М. Коновалова. – Владивосток: ТИНРО-Центр, 2008. – С. 266–271.
4. Чучукало, В.И. Питание и пищевые отношения nekтона и nekтобентоса в дальневосточных морях / В.И. Чучукало. – Владивосток: ТИНРО-Центр, 2006. – 483 с.
5. Ковековдова, Л.Т. Оценка микроэлементного состава отдельных видов промысловых гидробионтов Японского и Охотского морей / Л.Т. Ковековдова // Современное состояние водных биоресурсов: материалы научной конференции, посвященной 70-летию С.М. Коновалова. – Владивосток: ТИНРО-Центр, 2008. – С. 551–556.
6. Зорина, Л.Г. Содержание микроэлементов в лососевых рыбах / Л.Г. Зорина, П.С. Гордиенко, Б.В. Буквецкий // Электронный журн. «Исследовано в России» <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2003>. – С.2341–2348./196.pdf.
7. Марченко, А.Л. Видовые различия в содержании тяжелых металлов в массовых видах рыб из водоемов Южного Приморья // Современное состояние водных биоресурсов: материалы научной конференции, посвященной 70-летию С.М. Коновалова / А.Л. Марченко, Н.К. Христофорова. – Владивосток: ТИНРО-Центр, 2008. – С. 591–595.
8. Симоконь, М.В. Тяжелые металлы в промысловых рыбах залива Петра Великого в связи с условиями обитания: дис. ... канд. биол. наук / М.В. Симоконь. – Владивосток, 2003. – 150 с.
9. Иванюк, Н.Т. Физиологическая роль селена и йода в организме рыб / Н.Т. Иванюк, Л.Е. Микитин, М.В. Фомина, О.О. Дашковский. – 2014. – Т. 16, № 2. – Ч. 3. – С. 287–290.
10. Голубкина, Н.А. Содержание селена в мышечной ткани морских видов рыб в Каспийском море / Н.А. Голубкина, О.А. Чиженков, В.Ф. Зайцев, А.М. Камакин // Вестн. АГТУ. – 2009. – № 2. – С. 44–46.
11. Ваганов, А.С. Сравнительная характеристика содержания тяжелых металлов в промысловых видах рыб Куйбышевского водохранилища / А.С. Ваганов // Изв. Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т.13, № 5. – С. 143–146.
12. Ковековдова, Л.Т. Особенности распределения As в компонентах морских прибрежных экосистем Приморья / Л.Т. Ковековдова, Н.В. Иваненко, М.В. Симоконь // Исследовано в России. – 2002. – № 127. – С. 1437–1445. <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2002/127.pdf>.
13. Ковековдова, Л.Т. Оценка содержания металлов и мышьяка в донных отложениях и рыбах из рек бассейна залива Петра Великого (Японское море) / Л.Т. Ковековдова, М.В. Симоконь // Изв. ТИНРО. – 2010. – Т. 160. – С. 223–235.
14. Мур, Дж.В. Тяжелые металлы в природных водах / Дж.В. Мур, С. Рамамурти. – М.: Мир, 1987. – 285 с.
15. Зубкова, В.М. Содержание тяжелых металлов в тканях и органах разных видов рыб Волгоградского водохранилища / В.М. Зубкова, Л.А. Розумная, В.П. Болотов // Вестн. АГТУ. Сер. Рыбное хозяйство. – 2016. – № 4. – С. 93–97.
16. Лаптева, А.М. Тяжелые металлы и микроэлементы в промысловых рыбах Баренцева моря / А.М. Лаптева. – Владивосток: Дальрыбвтуз, 2010. – С. 145–149.

Сведения об авторах: Чусовитина Светлана Васильевна, кандидат биологических наук, доцент, e-mail: chusovitinasv@mail.ru;

Жадько Елена Александровна, кандидат биологических наук, доцент, e-mail: zhadko.helen@gmail.com;

Стеблевская Н.И., доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории переработки минерального сырья, e-mail: steblevskaya@ich.dvo.ru;

Полякова Н.В., кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярного и элементного анализа.

UDK 57.044:577.3:639.3:612.062

Halyna Tkachenko¹, Joanna Grudniewska², Agnieszka Pékala³

¹Department of Zoology and Animal Physiology, Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk, Arciszewski Str. 22B, 76-200 Slupsk, Poland, e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl, biology.apsl@gmail.com

²Joanna Grudniewska, Ph.D., Department of Salmonid Research, Stanislaw Sakowicz Inland Fisheries Institute, 83-330 Żukowo, Poland, e-mail: jgrudniewska@infish.com.pl

³Department of Fish Diseases, National Veterinary Research Institute, 24-100 Pulawy, Poland, e-mail: a.pekala@piwet.pulawy.pl

ONE-MONTH ALTERATION IN THE ANTIOXIDANT DEFENSE IN THE HEART OF RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS* WALBAUM) VACCINATED AGAINST *YERSINIA RUCKERI*

The present work aimed to assess the effects of oral vaccination against Yersinia ruckeri at first month after immunization in the cardiac tissue of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum). Concentrated vaccine with inactivated by formalin Y. ruckeri strains was enclosed by fish feed, and was administered three times every other day. Our results suggest that antioxidant reaction rates, characteristic of immunization, may be sufficient to protect against at least some of the physiological changes that might promote oxidative stress. In addition, our observation that products of lipid peroxidation are higher in the cardiac tissue from vaccinated animals (but not oxidatively modified proteins) indicates that antioxidant defenses is important in setting the balance in oxidative stress during immunization. Correlations between aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins and antioxidant defenses confirmed that increased superoxide dismutase activity caused to decreased level of protein damage in the cardiac tissue of the trout vaccinated against Y. ruckeri at first month after immunization. Discrepancies observed for antioxidant enzymes among vaccinated fishes following oral vaccination against Y. ruckeri may represent tissue-specific variation required to support tissue-specific responses to immunization, including tissue-specific differences in oxidative stress and antioxidant defenses.

Key words: yersiniosis, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), antioxidant defenses, immunization, cardiac tissue, total antioxidant capacity.

Г.М. Ткаченко, Й. Грудневская, А. Пенкала

ИЗМЕНЕНИЯ В АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЕ СЕРДЦА РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ (*ONCORHYNCHUS MYKISS* WALBAUM) В ПЕРВЫЙ МЕСЯЦ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ *YERSINIA RUCKERI*

Целью нашего исследования была оценка влияния пероральной вакцинации против Yersinia ruckeri в первый месяц после иммунизации в сердечной ткани радужной форели (Oncorhynchus mykiss Walbaum). Рыбу перорально иммунизировали кормом с инкорпорированным штаммом Y. ruckeri инактивированным формалином. Наши результаты показывают, что уровень антиоксидантных реакций, характерный для иммунизации, может быть достаточным для защиты от, по меньшей мере, некоторых физиологических изменений, которые могут способствовать окислительному стрессу при вакцинации рыб. Кроме того, наше наблюдение показало, что антиоксидантная защита важна для установления баланса в процессах окислительного стресса во время иммунизации. Корреляции между альдегидными производными окислительно-модифицированных белков и маркерами антиоксидантной защиты подтвердили, что повышенная активность супероксиддисмутазы приводит к снижению уровня повреждения белков в сердечной ткани форели,

вакцинированной против *Y. ruckeri* в первый месяц после иммунизации. Расхождения, наблюдаемые для антиоксидантных ферментов среди вакцинированных рыб, могут представлять собой специфические изменения, необходимые для поддержки тканеспецифических ответов на иммунизацию, включая различия в окислительном стрессе и антиоксидантной защите.

Ключевые слова: иерсиниоз, радужная форель (*Oncorhynchus mykiss*), антиоксидантная защита, иммунизация, сердечная ткань, общая антиоксидантная активность.

Introduction

Yersinia ruckeri, a Gram-negative rod-shaped enterobacterium, is the causative agent of enteric redmouth (ERM) disease or yersiniosis, which affects mainly salmonids [4]. The disease gets its name from the subcutaneous hemorrhages, it can cause at the corners of the mouth and in gums and tongue. Other clinical signs include exophthalmia, darkening of the skin, splenomegaly and inflammation of the lower intestine with accumulation of thick yellow fluid. The bacterium enters the fish via the secondary gill lamellae and from there it spreads to the blood and internal organs [10].

Vaccination plays an important role in large-scale commercial fish farming and has been a key reason for the success of salmon cultivation. Developed vaccines based on inactivated bacterial pathogens have proven to be very efficacious in fish [14]. The predictive indicators of vaccine success include: non-protective/pathological response genes (cathelicidin, C-type lectin and collagenase), vaccine-induced protective genes (immunoglobulin heavy chain, selenoprotein, 60S ribosomal protein L37 and unknown) and transcriptional biosignature of predominantly immune-relevant genes including hepcidin, immunoglobulin mu heavy chain, myelin and lymphocyte protein. Detection of these bioindicators demonstrates that there is a range of potential targets for future vaccine development [3, 10].

The first commercially available fish vaccine was an immersion vaccine against ERM consisting of *Y. ruckeri* bacterin. The ERM immersion vaccine has been successfully used in aquaculture farming of salmonids for more than 35 years [12]. Two of the most predominant groups of *Y. ruckeri* belong to serovar type 1 (Hagerman) which is more commonly isolated from rainbow trout, and serovar type II (O'Leary) first isolated from chinook salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [16]. Serovar 1 Hagerman strains are the basis for most commercial bacterins. Lipopolysaccharide (LPS) of serovar 1 *Y. ruckeri* elicits negligible or weak antibody responses in fish and low cell-proliferation memory responses compared with serovar 2 strains [15].

T lymphocytes play a main role in the adaptive immune response, which both coordinate other immune cells and destroy infected cells. Reactive oxygen species (ROS) have been extensively implicated in T-cell hyporesponsiveness, apoptosis, and activation [1]. Moreover, ROS can kill pathogens directly by causing oxidative damage to biocompounds or indirectly by stimulating pathogen elimination by various nonoxidative mechanisms, including pattern recognition receptors signaling, autophagy, neutrophil extracellular trap formation, and T-lymphocyte responses [13].

The antioxidant defense system that constitutes antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), and glutathione-S-transferase (GST) as well as nonenzymatic antioxidants [e.g., glutathione (GSH)] serve as an important biological defense against the toxicity of ROS. All of these markers have been extensively used in numerous field studies and are known to be involved in pathology and the etiology of fish diseases [7]. The present work aimed to assess the effects of oral vaccination against *Y. ruckeri* at first month after immunization in the cardiac tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum).

Materials and methods

Experimental fish and design. Clinically healthy rainbow trout were used in the experiments. The experiments were performed in water at $14.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and pH 7.2-7.4. The dissolved oxygen level was about 9 ppm with additional oxygen supply, with a water flow of 25 L/min, and a photoperiod of 12 h per day. The same experimental conditions were used during the whole research. The water parameters were maintained under constant surveillance. The fish were held in square tanks (150 fish per tank) and fed commercial pelleted diet.

The fish were divided into two groups: untreated control and immunized against ERM. The vaccine against ERM (Department of Fish Diseases, National Veterinary Research Institute, Pulawy, Poland) contained three inactivated *Y. ruckeri* strains originating from rainbow trout cultured at different farms, in which fish were exhibiting clinical signs of ERM. The bacteria isolates belonged to O1 serotype and showed some differences in their biochemical properties. Concentrated vaccine was enclosed by fish feed, and was administered three times every other day. Fifteen rainbow trout from each group were euthanized 31 days after the immunization, and then cardiac tissue samples were collected.

The samples were homogenized in ice-cold buffer (100 mM Tris-HCl, pH 7.2) using a glass homogenizer immersed in ice water bath. Homogenates were centrifuged at 3,000 g for 15 min at 4°C . After centrifugation, the supernatant was collected and frozen at -20°C until analyzed. Protein contents were determined with the method described by Bradford (1976) with bovine serum albumin as a standard [2]. Absorbance was recorded at 595 nm. All enzymatic assays were carried out at $22 \pm 0.5^\circ\text{C}$ using a Specol 11 spectrophotometer (Carl Zeiss Jena, Germany) in duplicate. The enzymatic reactions were started by adding the tissue supernatant.

Antioxidant defense assays. Superoxide dismutase (SOD, E.C. 1.15.1.1) activity was assessed by its ability to dismutate superoxide produced during quercetin auto-oxidation in an alkaline medium (pH 10.0) [9]. Catalase (CAT, E.C. 1.11.1.6) activity was determined by measuring the decrease of H_2O_2 in the reaction mixture using a spectrophotometer at the wavelength of 410 nm [8]. Glutathione reductase (GR, EC 1.6.4.2) activity in the sample was measured according to Glatzle and co-workers (1974) [6] with some modifications. Glutathione peroxidase (GPx, EC 1.11.1.9) activity was determined by detecting the nonenzymatic utilization of GSH (the reacting substrate) at an absorbance of 412 nm after incubation with 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) [11]. The total antioxidant capacity (TAC) level in the sample was estimated by measuring the TBARS level after Tween 80 oxidation. This level was determined spectrophotometrically at 532 nm [5].

Statistical analysis. The mean $\pm$ S.E.M. values was calculated for each group to determine the significance of inter group difference. Significance of differences between the antioxidant defense biomarkers (significance level, $p < 0.05$) was examined using Mann-Whitney *U* test. Correlations between parameters at the set significance level were evaluated using Spearman's correlation analysis [23]. All statistical calculation was performed on separate data from each individual with STATISTICA 8.0 (StatSoft, Krakow, Poland).

Results. Antioxidant defense in the cardiac tissue of the trout vaccinated orally against *Y. ruckeri* at first month after immunization are shown in Figs 1 and 2. There were no statistically significant alterations in the activities of antioxidant defenses except SOD activity (Fig. 1). The SOD activity was significantly increased by 9% ($p < 0.05$) after immunization, while CAT, GR and GPx was non-significantly decreased by 29%, 5%, and 9% ($p > 0.05$) compared to the controls (Fig. 1).

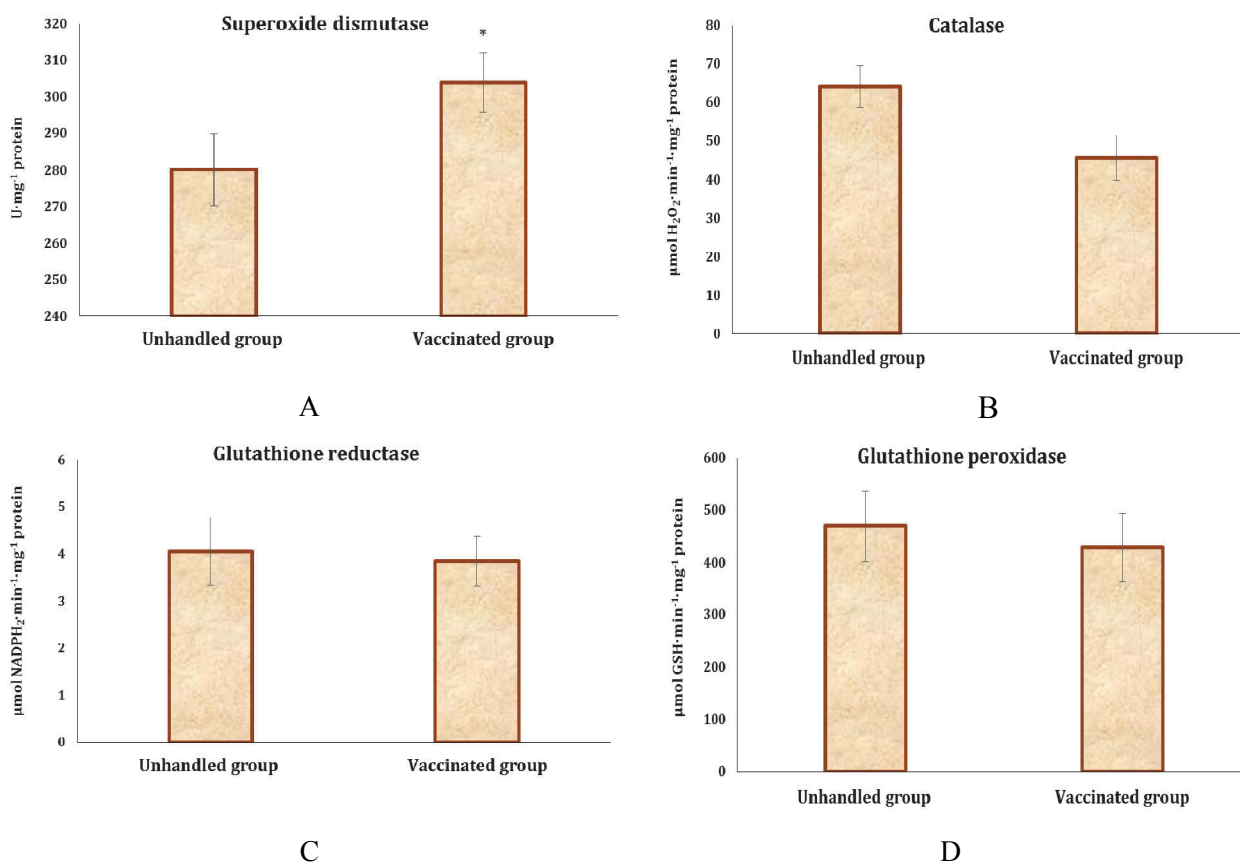


Fig. 1. Superoxide dismutase (A), catalase (B), glutathione reductase (C), and glutathione peroxidase (D) activities in the cardiac tissue of the trout vaccinated against *Y. ruckeri* at first month after immunization.

Data are represented as mean $\pm$ S.E.M. (n=15). * – the significant change was shown as $p < 0.05$ when compared values of unhandled and vaccinated groups

Non-significant increase of TAC level in the cardiac tissue of the trout vaccinated against *Y. ruckeri* at first month after immunization was found (Fig. 2).

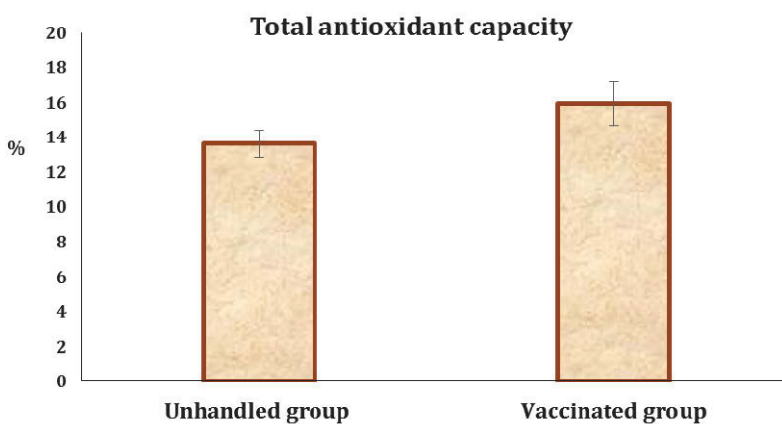


Fig. 2. The total antioxidant capacity in the cardiac tissue of the trout vaccinated against *Y. ruckeri* at first month after immunization. Data are represented as mean $\pm$ S.E.M. (n=15)

In vaccinated group, the aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins correlated positively with CAT activity ($r=0.833$, $p=0.000$) (Fig. 3) and correlated inversely with SOD activity ($r=-0.695$, $p=0.006$) (Fig. 3).

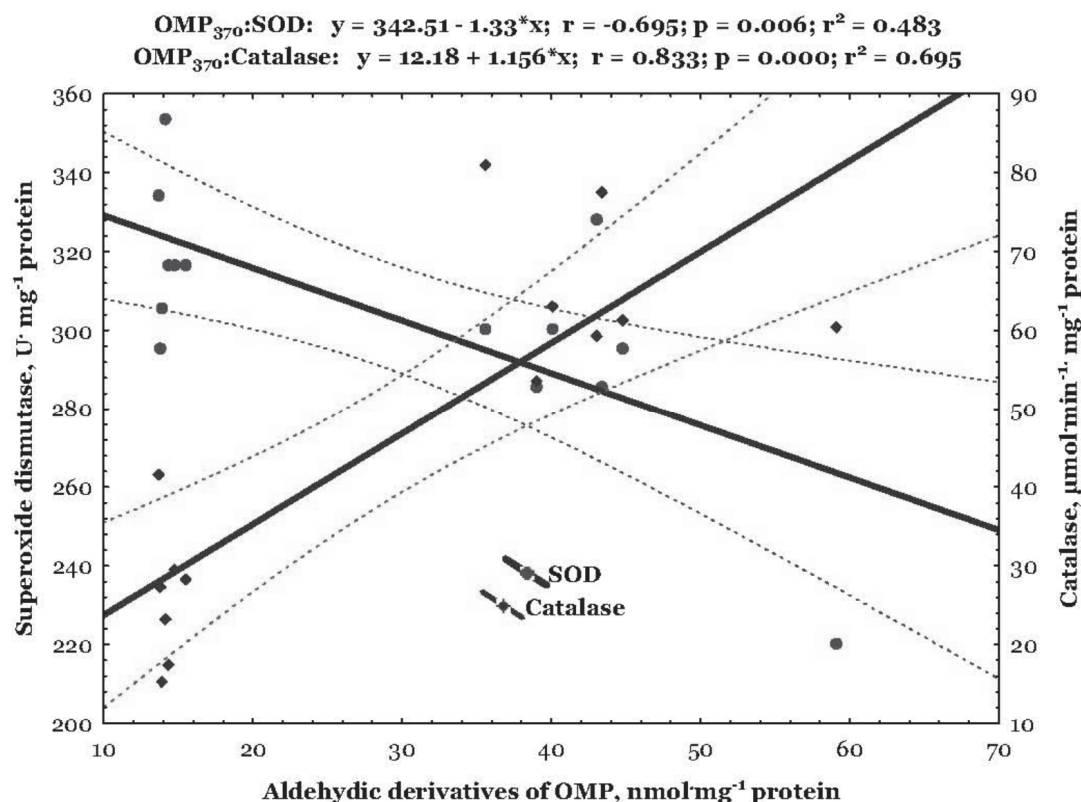


Fig. 3

Discussion

We report a general lack of response after oral vaccination against *Y. ruckeri* among the components of the enzymatic system of antioxidant defense except SOD activity in the cardiac tissue of the trout. Even with a small boost in oxidative capacities, and a greater tissue content of lipid peroxidation products, these physiological changes after immunization are not accompanied by an upregulation of the enzymatic antioxidant defense and the total antioxidant capacity in the cardiac tissue of vaccinated trout (Figs 1 and 2). Our results suggest that antioxidant reaction rates, characteristic of immunization, may be sufficient to protect against at least some of the physiological changes that might promote oxidative stress. In addition, our observation that products of lipid peroxidation are higher in the cardiac tissue from vaccinated animals (but not oxidatively modified proteins) indicates that antioxidant defenses is important in setting the balance in oxidative stress during immunization. Correlations between aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins and antioxidant defenses confirmed that increased SOD activity caused to decreased level of protein damage in the cardiac tissue of the trout vaccinated against *Y. ruckeri* at first month after immunization (Fig. 3). The presence of such a relationship between SOD and CAT is expected because the two enzymes are linked in function: SOD converts superoxide anions to H_2O_2 , which is decomposed by CAT.

Data from the current study add to a growing body of literature addressing the central question of how, and to what extent, enzymatic antioxidant defenses of salmonids are altered in response to immunization against *Y. ruckeri*. Fish exposed to vaccination exhibit a variety of

physiological responses, including oxidative metabolism imbalances [17-22]. In our previous study [22], we have analyzed the levels of oxidative stress biomarkers [2-thiobarbituric acid substances (TBARS), aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins (OMP), TAC] and metabolic alterations in the liver of juvenile rainbow trout determining the effectiveness of the vaccine against *Y. ruckeri*. A statistically significant reduction in lipid peroxidation between the mean in groups immunized after first and second months after vaccination indicated an effective adaptive antioxidant defense mechanisms of fish for the immunity against *Y. ruckeri* [22].

To determine the effects of vaccination against *Y. ruckeri* on health condition of rainbow trout in general, and oxidative stress biomarkers and metabolic parameters specifically, as well as to identify mechanisms that underpin the susceptibility of fish to vaccination, we compared the liver and heart function, and the oxidative mechanism underlying those effects, by detecting relevant lipid peroxidation and protein oxidation biomarkers, as well as aerobic-anaerobic metabolism in trout immunized against *Y. ruckeri* at 30 and 60 days compared to healthy individuals [17, 20]. Decreased aldehydic and ketonic derivatives of OMP and the reduction of aminotransferases and lactate dehydrogenase activities were sensitive to vaccination of trout against *Y. ruckeri* and may potentially be used as biomarkers in evaluating vaccine effects in the liver of rainbow trout [20]. The level of lipid peroxidation in the liver and heart on the 61st day after immunization of rainbow trout does not significantly differ from that in the control [17]. Vaccination caused a slight decrease of the aldehydic and ketonic derivatives level in the heart and liver against the backdrop of a significant TAC decrease in the cardiac tissue of the trout treated by the vaccine against *Y. ruckeri* on the 61st day after immunization. This is possibly a result of a long-term adaptation to immunization [17]. No significant difference was noted in lipid peroxidation level in the muscle tissue of rainbow trout in either the first or second month after vaccination, while aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins OMB in the vaccinated group were significantly lower in the second month compared to those in the first month after vaccination ($P < 0.05$) [21]. The content of ketonic derivatives of OMB in muscles in the first month after immunization was higher compared to untreated control. All these culminated in a depletion of GPx activity and decreased TAC level. Correlations between CAT activity and lipid peroxidation and TAC confirmed the pivotal role of CAT in antioxidant defense in the muscle tissue during immunization. From a broader perspective, it is suggested that immunization of fish with anti-*Yersinia* vaccine is associated with induced ROS formation and oxidative stress. ROS would therefore be at least partially responsible for the induction of both humoral and cellular elements of the immunity and increased protective immunity against *Y. ruckeri* infection [21].

When interpreted in the context of previous works, results reported herein (Figs 1-3) indicate that the discrepancies observed for antioxidant enzymes among vaccinated fishes following oral vaccination against *Y. ruckeri* may represent tissue-specific variation required to support tissue-specific responses to immunization, including tissue-specific differences in oxidative stress and antioxidant defenses.

Conclusions

In this study, superoxide dismutase activity in the cardiac tissue of vaccinated trout was increased. Oral vaccination against *Y. ruckeri* not led to oxidative damage on tissue at first month after vaccination. Correlations between aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins and antioxidant defenses confirmed that increased SOD activity caused to decreased level of protein damage in the cardiac tissue of the trout vaccinated against *Y. ruckeri* at first month after immunization. SOD is a metalloenzymes that play a key role in the defense against oxidative stress by transforming superoxide anions into hydrogen peroxide, which is detoxified by both GPx and CAT activities. The elevated levels of SOD in cardiac tissue shows a possible shift toward a detoxification mechanism under immunization which indicated that the rainbow trout

could protect itself against the toxic effect of superoxide anion radical by increasing its activity. The higher SOD activity than in other antioxidant enzymes could be an indicator of compensatory cardiac tissue response to vaccination.

This work was supported by grant of the Pomeranian University for Young Scientists.

References

1. Belikov, A.V. T cells and reactive oxygen species / A.V. Belikov, B. Schraven, L. Simeoni // J. Biomed. Sci. – 2015. – 22. – P. 85.
2. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – 72. – P. 248-254.
3. Bridle, A.R. Identification of surrogates of protection against yersiniosis in immersion vaccinated Atlantic salmon / A.R. Bridle, B.F. Koop, B.F. Nowak // PLoS One. – 2012. – 7(7). – P. e40841.
4. Fernández, L. Molecular virulence mechanisms of the fish pathogen *Yersinia ruckeri* / L. Fernández, J. Méndez, J.A. Guijarro // Vet. Microbiol. – 2007. – 125(1-2). – P. 1-10.
5. Galaktionova, L.P. Lipid peroxidation in patients with gastric and duodenal ulcers / L.P. Galaktionova, A.V. Molchanov, S.A. El'chaninova, Bla. Varshavskii // Klinicheskaia Laboratornaia Diagnostika. – 1998. – 6. P. 10-14 (in Russian, Abstract in English).
6. Glatzle, D. Glutathione reductase test with whole blood, a convenient procedure for the assessment of the riboflavin status in human / D. Glatzle, J.P. Vuilleumier, F. Weber, K. Decker // Experientia. – 1974. – 30. – P. 665-667.
7. Kaptaner, B. Alterations in histology and antioxidant defense system in the testes of the lake Van fish (*Alburnus tarichi* Güldenstädt, 1814) / B. Kaptaner, E. Kankaya, A. Dogan, A. Durmuş // Environ. Monit. Assess. – 2016. – 188(8). – P. 474.
8. Koroliuk, M.A. A method of determining catalase activity / M.A. Koroliuk, L.I. Ivanova, I.G. Maïorova, V.E. Tokarev // Laboratornoe Delo. – 1988. – 1. – P. 16-19 (in Russian).
9. Kostiuk, V.A. A simple and sensitive method of determination of superoxide dismutase activity based on the reaction of quercetin oxidation / V.A. Kostiuk, A.I. Potapovich, Zh.V. Kovaleva // Voprosy Meditsinskoï Khimii. – 1990. – 36. – P. 88-91 (in Russian, Abstract in English).
10. Kumar, G. *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish / G. Kumar, S. Menanteau-Ledouble, M. Saleh, M. El-Matbouli // Vet. Res. – 2015. – 46. – P. 103.
11. Moin, V.M. A simple and specific method for determining glutathione peroxidase activity in erythrocytes / Moin V.M. // Laboratornoe Delo. – 1986. – 12. – P. 724-727 (in Russian, Abstract in English).
12. Ohtani, M. Global 3D imaging of *Yersinia ruckeri* bacterin uptake in rainbow trout fry / M. Ohtani, K.R. Villumsen, E.O. Koppang, M.K. Raida // PLoS One. – 10(2). – P. e0117263.
13. Paiva, C.N. Are reactive oxygen species always detrimental to pathogens? / C.N. Paiva, M.T. Bozza // Antioxid. Redox Signal. – 2014. – 20(6). – P. 1000-1037.
14. Sommerset, I. Vaccines for fish in aquaculture / I. Sommerset, B. Krossøy, E. Biering, P. Frost // Expert. Rev. Vaccines. – 2005. – 4(1). – P. 89-101.
15. Stevenson, R.M. Immunization with bacterial antigens: yersiniosis / R.M. Stevenson // Dev. Biol. Stand. – 1997. – 90. – P. 117-124.
16. Thomson K.D., Adams A. Current Trends in Immunotherapy and Vaccine Development for Bacterial Diseases of Fish. In: Current trends in the study of bacterial and viral fish and shrimp diseases. Editor Ka Yin Leung, Molecular aspects of fish and marine biology; Vol. 3. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., NJ, USA, 2004. – P. 313-372.
17. Tkachenko, H. Effect of vaccination against *Yersinia ruckeri* on oxidative stress biomarkers in the liver and heart of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) / H. Tkachenko, J. Grudniewska // Научный журнал «Известия Калининградского государственного технического университета». – 2016a. – 41. – P. 59-67.
18. Tkachenko, H. Biochemical response in the muscle tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) following vaccination against *Yersinia ruckeri* / H. Tkachenko, J. Grudniewska, A. Pękala // In:

Globalisation and regional environment protection. Technique, technology, ecology. Scientific editors Tadeusz Noch, Wioleta Mikołajczewska, Alicja Wesołowska. Gdańsk, Gdańsk High School Publ., 2016b. – P. 235–264.

19. Tkachenko, H. Muscle biochemistry in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* following *Yersinia ruckeri* vaccination / H. Tkachenko, J. Grudniewska, A. Pękala // Baltic Coastal Zone – Journal of Ecology and Protection of the Coastline. – 2016c. – 20. – P. 137–159.

20. Tkachenko, H. Effects of vaccination against *Yersinia ruckeri* on oxidative stress biomarkers and liver and heart biochemistry in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / H. Tkachenko, J. Grudniewska, A. Pękala, E. Paździor // Arch. Pol. Fish. – 2016d. – 24. – P. 33–46.

21. Tkachenko, H. Oxidative stress and antioxidant defence markers in muscle tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after vaccination against *Yersinia ruckeri* / H. Tkachenko, J. Grudniewska, A. Pękala, E. Terech-Majewska // J. Vet. Res. – 2016e. – 60. – P. 25–33.

22. Tkachenko, H. Przemiany metaboliczne w wątrobie pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) immunizowanego szczepionką przeciwko *Yersinia ruckeri* / H. Tkachenko, I. Komorowski, J. Grudniewska, N. Kurhaluk // Słupskie Prace Biologiczne. – 2015. – 12. – P. 367–391.

23. Zar, J.H. Biostatistical Analysis. 4th ed., Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1999.

UDK 639.3:615.32:615.38

Halyna Tkachenko¹, Lyudmyla Buyun², Elżbieta Terech-Majewska³, Zbigniew Osadowski¹¹Institute of Biology and Environmental Protection, Pomeranian University in Slupsk,
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland, e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl²M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine,
Timiryazevska Str. 1, Kyiv, Ukraine, e-mail: buyun@nbg.kiev.ua³Department of Epizootiology, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland**SCREENING FOR ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF THE ETHANOLIC EXTRACT
DERIVED FROM *FICUS MUCUSO* WELW. EX FICALHO LEAVES (MORACEAE)
AGAINST BACTERIAL FISH PATHOGENS**

Use of natural products has been considered as an alternative to antibiotics in fish health management to control bacterial infections in aquaculture. Many plants were shown to have potential for being effective herbal drugs against the fish and other aquaculture pathogens. Therefore, the aim of this study was to test the efficacy of ethanolic extract prepared from Ficus mucoso Welw. ex Ficalho leaves against fish pathogens, Aeromonas hydrophila, Citrobacter freundii, Pseudomonas fluorescens, Yersinia ruckeri to evaluate the possible use of this plant in preventing infections caused by these bacteria in aquaculture. The antimicrobial susceptibility testing was done on Muller-Hinton agar by disc diffusion method (Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol). Muller-Hinton agar plates were inoculated with 200 and 400 µL of standardized inoculum (10^8 CFU/mL) of bacterium and spread with sterile swabs. Aeromonas hydrophila (strain E 2/7/15) isolated locally from gills of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum) and Pseudomonas fluorescens (strain E 1/7/15) isolated locally from internal organs of rainbow trout with clinical features of furunculosis, Citrobacter freundii isolated locally from gills of eel (Anguilla anguilla L.) with clinical features of disease, as well as Yersinia ruckeri collected from clinically healthy fish and fish with clinical symptoms of yersiniosis were used as test organisms. In our study, ethanolic extracts obtained from F. mucoso proved effective against bacteria tested, with 10-15 mm zones of inhibition being observed. F. mucoso demonstrated the highest antibacterial activity against Citrobacter freundii and Pseudomonas fluorescens. Among various bacteria tested, the highest susceptibility for 400 µL of standardized inoculum (10^8 CFU/mL) of Citrobacter freundii and Pseudomonas fluorescens was noted. Thus, the preliminary screening assay indicated that F. mucoso leaves extract possess a great potential for the therapy of bacterial infections and may be used as a natural antiseptic and antimicrobial agent in aquaculture. Further investigation needs to be focused on isolation and identification of bioactive compounds from F. mucoso, which would be a platform for further pharmacological studies, in vivo tests and practical applications in fish health management.

Key words: *Aeromonas hydrophila, Citrobacter freundii, Pseudomonas fluorescens, Yersinia ruckeri, antimicrobial activity, disc diffusion technique, ethanolic extract.*

Г.М. Ткаченко, Л.И. Буюн, Э. Терех-Маевская, З. Осадовский
СКРИНИНГ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ЭТАНОЛЬНОГО ЭКСТРАКТА,
ПОЛУЧЕННОГО ИЗ ЛИСТЬЕВ *FICUS MUCUSO* WELW. EX FICALHO
(MORACEAE), ОТНОСИТЕЛЬНО БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ РЫБ

Использование натуральных продуктов в аквакультуре рассматривается как альтернатива антибиотикам для борьбы с микробными инфекциями. Многие растения потенциально могут быть эффективным средством в лечении заболеваний, вызванных бактериальными, грибковыми и вирусными возбудителями. Кроме того, фитотерапия – это эффективный метод для повышения защитных свойств у рыб. Преимущество фитопрепаратов перед синтетическими лекарственными средствами заключается в их малой токсичности, большей биодоступности, отсутствии выраженных побочных эффектов. Целью этого исследования было проверить антимикробную

эффективность этанольного экстракта, полученного из листьев *Ficus tucuso* Welw. ex Ficalho, относительно бактериальных возбудителей у рыб (*Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Yersinia ruckeri*), чтобы оценить возможное использование этого растения для предотвращения инфекций, вызванных этими бактериями в аквакультуре. Листья *F. tucuso* были собраны в Национальном ботаническом саду им. Н.Н. Гришко НАН Украины (Киев, Украина). Свежие листья промывали, измельчали, взвешивали и гомогенизировали в 96 % этаноле для получения 10 % экстрактов. *Aeromonas hydrophila* (штамм E 2/7/15), *Pseudomonas fluorescens* (штамм E 1/7/15), а также *Yersinia ruckeri*, выделенные из внутренних органов радужной форели (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) с клиническими признаками фурункулеза и иерсиниоза, а также *Citrobacter freundii*, изолированный из внутренних органов угря (*Anguilla anguilla* L.) с клиническими признаками заболевания, мы использовали в этом исследовании как тестовые штаммы в диско-диффузионном методе Кирби-Бауэра (1966). В чаши с агаром Muller-Hinton инокулировали 200 и 400 мкл стандартизованного инокулята (10^8 КОЕ/мл) бактерий. В нашем исследовании этанольный экстракт, полученный из листьев *F. tucuso*, проявил антимикробную активность относительно тестируемых бактерий (диаметр зон ингибирования роста составлял 10–15 мм). Экстракт из листьев *F. tucuso* продемонстрировал самую высокую антибактериальную активность относительно *Citrobacter freundii* и *Pseudomonas fluorescens* (400 мкл стандартизованного инокулята). Таким образом, предварительный скрининговый анализ показал, что экстракт из листьев *F. tucuso* обладает большим антимикробным потенциалом для лечения бактериальных инфекций рыб и может использоваться в качестве природного антисептика и антимикробного агента в аквакультуре. Дальнейшие исследования будут сосредоточены на изоляции и идентификации биологически активных соединений из *F. tucuso*, что станет платформой для фармакологических исследований *in vivo* с целью практического применения в аквакультуре.

Ключевые слова: *Ficus tucuso* Welw. ex Ficalho, Moraceae, антимикробная активность, *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Yersinia ruckeri*, диско-диффузионный метод Байера-Кирби.

Introduction

Recently, application of herbals as immunostimulants have potential to alternative for drugs, antibiotics or chemicals being used to control fish diseases in fish culture [9]. The alternative herbal bio-medicinal products in the aquacultural have the characteristics of growth promoting ability and tonic to improve the immune system and appetite stimulators. They increase consumption, induce maturation, and have antimicrobial capability without any environmental and hazardous problems. Herbal compounds such as phenolics, polyphenols, alkaloids, quinones, terpenoids, lectines and polypeptides have been shown to be very effective alternatives to antibiotics and other synthetic compounds [7]. Moreover, herbal plants may provide a low-cost agents in aquaculture and greater accuracy than chemotherapeutic agents in this field [1].

Use of natural products has been considered as an alternative to antibiotics in fish health management to control bacterial infections in aquaculture. Many plants were shown to have potential for being effective herbal drugs against the fish and other aquaculture pathogens [20]. Additionally, it is an attractive method for increasing the protective capabilities of fish [18].

Ficus L. is one of the largest genera of angiosperms, with about 750 species of terrestrial trees, shrubs, hemi-epiphytes, climbers and creepers occurring in the tropics and subtropics of the world [6]. *Ficus* trees have widely been used by humans over their history in a variety of industries and fields of activity. Virtually all parts of their body are utilized by local people in various medicinal practices to cure wounds, sores, stomach and eye problems, headaches and toothaches, and even tumours and cancer, etc. A number of species are known helpful in healing disorders of digestive and respiratory systems, parasitic infections, and also as painkillers, tonics, and ecbolics [16].

Ficus (Moraceae) species are reported to have antimicrobial activity against several pathogenic bacteria and have been used as traditional medicines for the treatment of human diseases

[2, 10, 21, 23]. Moreover, in line with the growing interest in the antibacterial properties of different plants, in our previous researches, we have used ethanolic extracts derived from leaves of various *Ficus* species to assess antibacterial activity against harmful fish pathogens, *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens* [26-30].

Ficus mucoso Welw. ex Ficalho is an African monoecious evergreen terrestrial tree, growing to a height of 30-40 m, with tall trunk, white puberulous leafy twigs, and often forming buttress roots. The leaves are 6-17 cm long and 4-15 cm broad, chartaceous to subcoriaceous, nearly orbicular to elliptic or obovate, with acuminate apex and mostly cordate base, puberulous to hirsute mostly on the veins. The pedunculate syconia are born on up to 30-40 cm long branched leafless branchlets on the main branches or also on the trunk; they are depressed-globose to obovoid, 2.5-4 cm in diameter, puberulous, at maturity red to dark orange [5].

Therefore, the aim of this study was to test the efficacy of ethanolic extract prepared from *F. mucoso* leaves against fish pathogens, *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Yersinia ruckeri* to evaluate the possible use of this plant in preventing infections caused by these bacteria in aquaculture.

Materials and methods

Collection of Plant Material and Preparing of Plant Extract. The leaves of *F. mucoso* were sampled in M.M. Gryshko National Botanical Garden (Kyiv, Ukraine). The whole collection of tropical and subtropical plants at M.M. Gryshko National Botanical Garden (Kyiv, Ukraine) (including *Ficus* spp. plants) has the status of a National Heritage Collection of Ukraine. The sampled leaves of *Ficus* spp. were brought into the laboratory for antimicrobial studies. Freshly crushed leaves were washed, weighted, and homogenized in 96% ethanol (in proportion 1:10) at room temperature, and centrifuged at 3,000 g for 5 minutes. Supernatants were stored at -20°C in bottles protected with laminated paper until required.

Method of Culturing Pathological Sample and identification Method of the Bacteria. *Aeromonas hydrophila* (strain E 2/7/15) isolated locally from gill of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) and *Pseudomonas fluorescens* (strain E 1/7/15) isolated locally from internal organs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) with clinical features of furunculosis (kidneys were gray, liver was pale and fragile, enlarged spleen with exudate in the body cavity), as well as *Citrobacter freundii* isolated locally from gill of eel (*Anguilla anguilla* L.) with clinical features of disease were used as test organisms. Samples of internal organs (kidneys, spleen, liver) weighting 2 g were taken and homogenized before preincubation in TSB broth (Trypticase Soya Broth, Oxoid) for 24 hrs. After preincubation, bacterial culture was transferred to two different cultivation media: TSA (Trypticase Soya Agar, Oxoid) and BHIA (Brain Heart Infusion Agar, Oxoid) supplemented with 5% of sheep blood (OIE Fish Diseases Commission, 2000). After 48 hrs of incubation at 27°C, characteristic pink colonies were selected for further examination.

The isolates of *Y. ruckeri* were collected from clinically healthy fish and fish with clinical symptoms of yersiniosis. Internal organs (predominantly pronephros and gills) as well as intestinal swabs were sampled. Tissue samples were homogenized and inoculated on nutritional agar with 5% blood (Columbia Blood Agar, Oxoid). Following a 24 h incubation period at 25°C ± 2°C, distinctive colonies were transferred onto TSA. Round, elevated, shining and whitish colonies without haemolytic properties were considered typical of *Y. ruckeri*. After 24h-incubation at 25°C ± 2°C, an oxidase test and Gram-staining were performed. Gram-negative and oxidase-negative isolates were cultured on TSA medium and incubated for 24 h at 25°C ± 2°C.

Preliminary characterization of isolates. Bacterial species were identified with the use of the oxidase test and API E test kit (Biomerieux, France). The results of the test were interpreted in accordance with the manufacturer's protocol, after 24 hrs of incubation at 27°C. Codes ++V-V- --+V+++---+-VV+ in API E test were identified as *A. hydrophila*. The strain was obtained from Diagnostics Laboratory of Fish and Crayfish Diseases, Department of Veterinary Hygiene, Provincial Veterinary Inspectorate in Olsztyn (Poland).

For characterization of *Y. ruckeri* isolates, bacteria were Gram-stained and then morphologically evaluated. 24h bacterial culture was wet-mounted and a microscopic smear on the slide was prepared. Following fixation over the flame, the slide was Gram-stained with a Gram colour set (Merck) according to the manufacturer's instructions. The shape of the bacteria was determined by observing the microorganisms under a light microscope at 1000x with immersion oil (Kocwowa 1981, Whitman and MacNair 2004). Motility was examined on a wet mount. A drop of distilled water was put on a cover slip and bacteria were mounted on it with drops of distilled water put on the corners of a slip. The slip was then covered with a special microscopic slide with an indentation and the whole set was vigorously turned. The motility of the bacteria was evaluated under a light microscope at 400x [12, 32].

Oxidase test was performed according to manufacturer's instruction (Merck). Biochemical properties of individual *Y. ruckeri* isolates were investigated with the API 20E system (BioMerieux). Tests were performed according to the manufacturer's instructions. The results, namely, the presence or a lack of reaction, were read based on the key featured in the operating procedure provided by the manufacturer of the assay. The results were analysed with the Apiweb software (BioMerieux) to identify the investigated bacterium.

Bacterial Growth Inhibition Test of Plant Extracts by the Disk Diffusion Method. Strains tested were plated on TSA medium (Tryptone Soya Agar) and incubated for 24 hrs at 25°C. Then the suspension of microorganisms was suspended in sterile PBS and the turbidity adjusted equivalent to that of a 0.5 McFarland standard. The disc diffusion assay (Kirby-Bauer Method) was used to screen for antibacterial activity [4]. Muller-Hinton agar plates were inoculated with 200 and 400 µL of standardized inoculum (10^8 CFU/mL) of bacterium and spread with sterile swabs.

Sterile filter paper discs impregnated by extract were applied over each of the culture plates, 15 min after bacteria suspension was placed. The antimicrobial susceptibility testing was done on Muller-Hinton agar by disc diffusion method (Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol). A negative control disc impregnated by sterile ethanol was used in each experiment. The sensitivity of strain was also studied to the commercial preparation with extracts of garlic (in dilution 1:10, 1:100 and 1:1000). After culturing bacteria on Mueller-Hinton agar, the disks were placed on the same plates and incubated for 24 hrs at 25°C. The diameters of the inhibition zones were measured in millimeters, and compared with those of the control and standard susceptibility disks. Activity was evidenced by the presence of a zone of inhibition surrounding the well.

Statistical analysis. Each test was repeated six times and the average values of antimicrobial activity were calculated. All statistical calculation was performed on separate data from each species with STATISTICA 8.0 software (StatSoft, Poland) [33]. The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S) ≥ 15 mm, Intermediate (I) = 11-14 mm, and Resistant (R) ≤ 10 mm [17].

Results

Antimicrobial activity of ethanolic extracts obtained from *F. mucoso* against *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Yersinia ruckeri* expressed as mean of diameters of inhibition zone is presented in Figs 1–5.

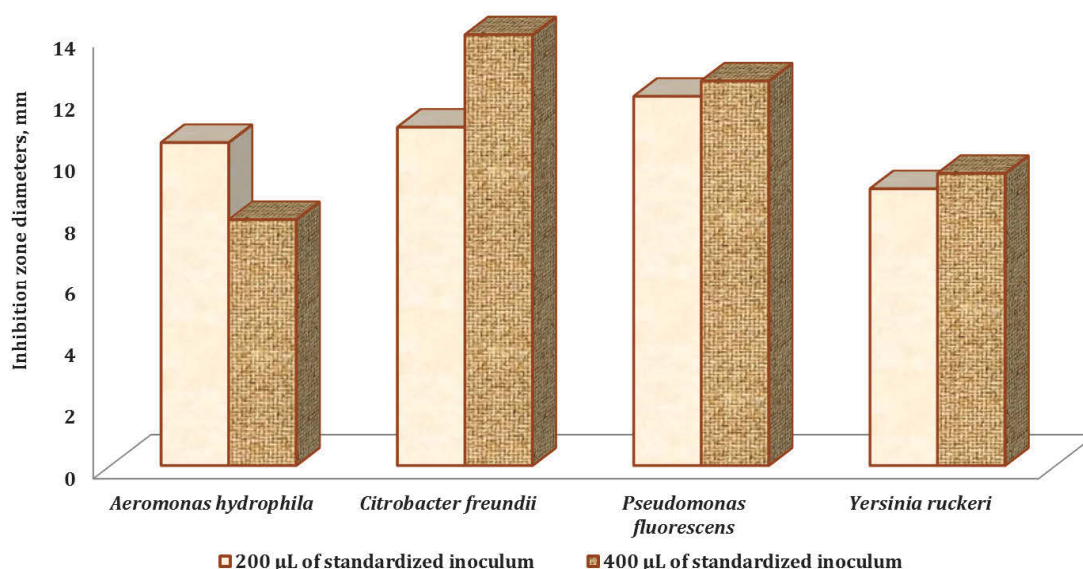


Fig. 1. Antimicrobial activity of ethanolic extracts obtained from *F. mucuso* against *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Yersinia ruckeri*. Muller-Hinton agar plates inoculated with 200 and 400 µL of standardized inoculum (10^8 CFU/mL) of bacterium

Our results from the disc diffusion assay indicated that the *A. hydrophila* (200 and 400 µl of standardized inoculum) revealed intermediate susceptibility concerning to ethanolic extract obtained from leaves of *F. mucuso* (inhibition zone diameters were ranged from 8 to 11.5 mm) (Figs 1 and 2).

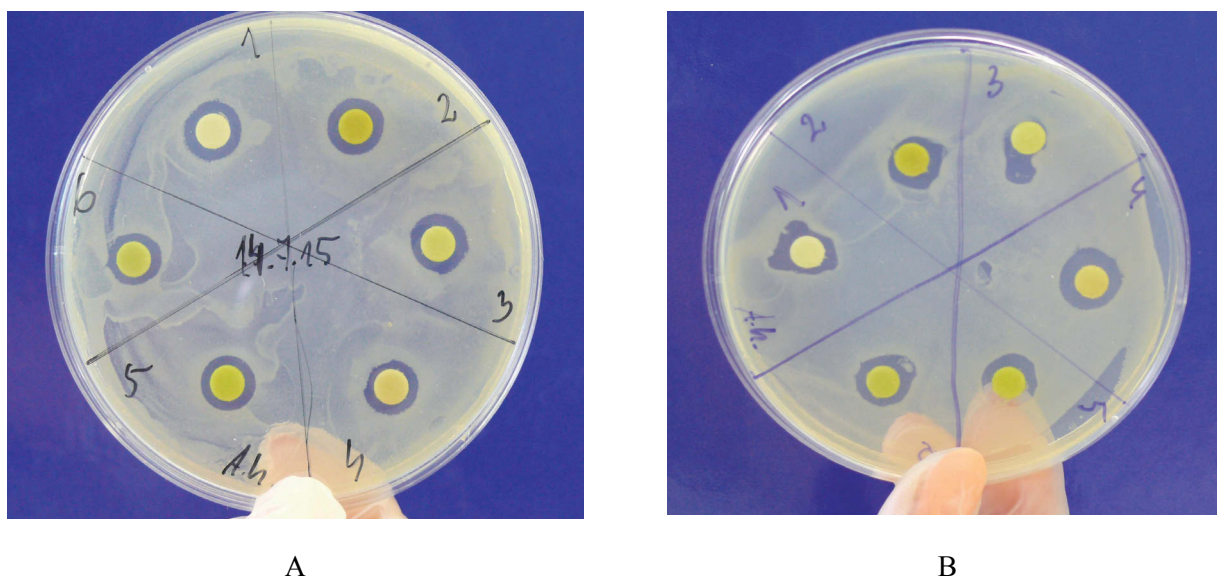


Fig. 2. Antimicrobial activity of ethanolic extracts obtained from *F. mucuso* (3) against *Aeromonas hydrophila*. Muller-Hinton agar plates inoculated with 200 (A) and 400 µL of standardized inoculum (10^8 CFU/mL) of bacterium (B)

Our results demonstrated that the *C. freundii* (200 and 400 µl of standardized inoculum) revealed intermediate susceptibility to ethanolic extract obtained from leaves of *F. mucuso* (inhibition zone diameters were ranged between 10 and 15 mm) (Fig. 3).



A



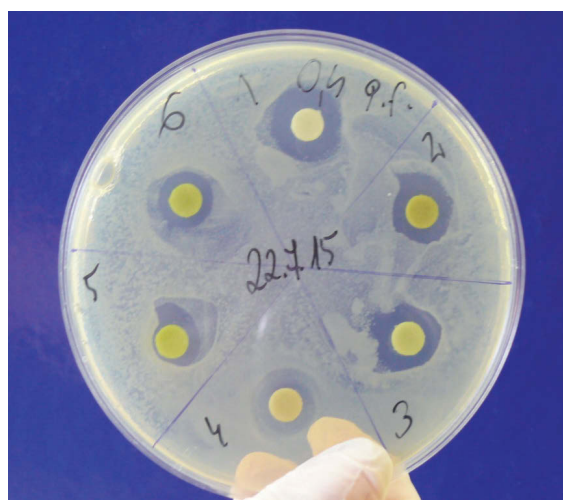
B

Fig. 3. Antimicrobial activity of ethanolic extracts obtained from *F. mucuso* (3) against *Citrobacter freundii*. Muller-Hinton agar plates inoculated with 200 (A) and 400 µL of standardized inoculum (10^8 CFU/mL) of bacterium (B)

The most effective at least causing a zone of inhibition 14-16 mm was ethanolic extract from *F. mucuso* against *Pseudomonas fluorescens* both in 200 µL of standardized inoculum (10^8 CFU/mL) of bacterium (inhibition zone diameters were ranged from 11 to 12.5 mm) and 400 µL (11-15 mm) (Fig. 4).



A



B

Fig. 4. Antimicrobial activity of ethanolic extracts obtained from *F. mucuso* (3) against *Pseudomonas fluorescens*. Muller-Hinton agar plates inoculated with 200 (A) and 400 µL of standardized inoculum (10^8 CFU/mL) of bacterium (B)

Y. ruckeri (200 and 400 µL of standardized inoculum) revealed intermediate susceptibility to ethanolic extract obtained from leaves of *F. mucuso* (inhibition zone diameters were ranged between 8 and 10 mm) (Fig. 5).

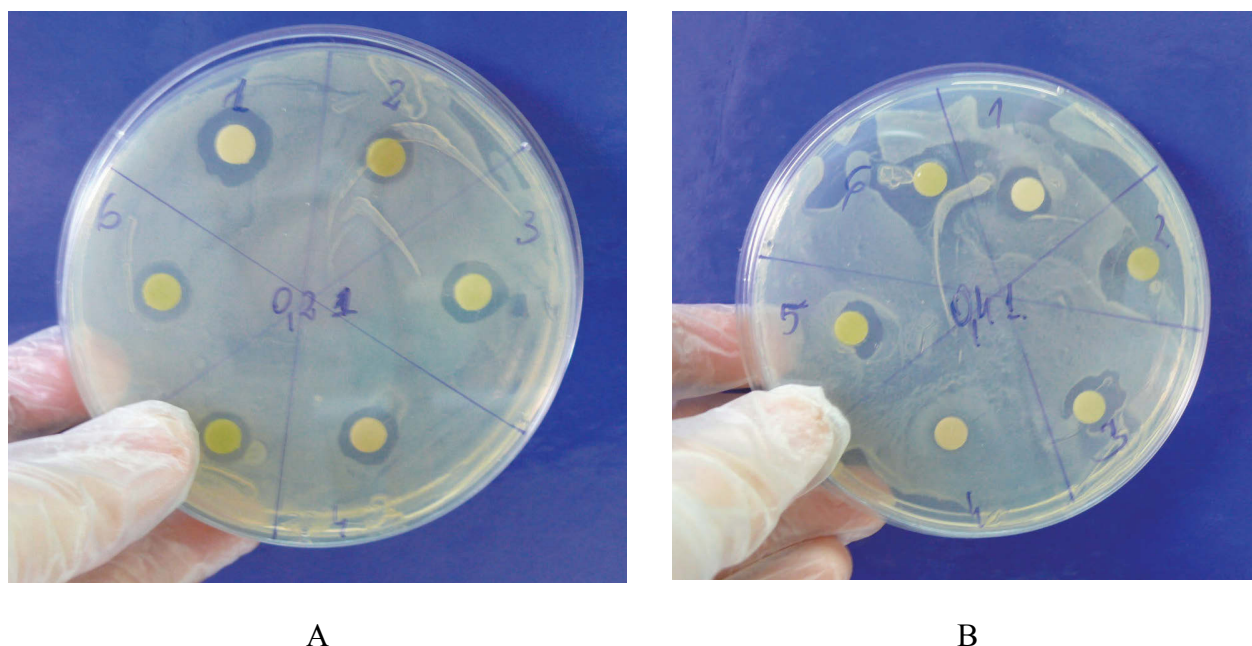


Fig. 5. Antimicrobial activity of ethanolic extracts obtained from *F. mucoso* (3) against *Yersinia ruckeri*. Muller-Hinton agar plates inoculated with 200 (A) and 400 μL of standardized inoculum (10^8 CFU/mL) of bacterium (B)

Discussion

Our results indicated that extract obtained from *F. mucoso* offer a promising alternative to the use of antibiotics in controlling of infection caused by *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Yersinia ruckeri*. In our study, ethanolic extracts obtained from *F. mucoso* proved effective against bacteria tested, with 10-15 mm zones of inhibition being observed. *F. mucoso* demonstrated the highest antibacterial activity against *Citrobacter freundii* and *Pseudomonas fluorescens* (Figs 1, 3 and 4). Among various bacteria tested, the highest susceptibility for 400 μL of standardized inoculum (10^8 CFU/mL) of *Citrobacter freundii* and *Pseudomonas fluorescens* was noted (Figs 1, 3 and 4).

The comprehensive review of usefulness of some medicinal plants (herbal drugs) against fish diseases has been presented by many researchers. For example, Atindehou and co-workers (2002) tested crude ethanol extracts from 115 plant species against Gram-negative bacteria (*E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa*), Gram-positive bacteria (*Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*) and fungi (*Candida albicans* and *Cladosporium cucumerinum*). Among the examined plants, there were three *Ficus* species, namely *F. exasperata*, *F. mucoso*, and *F. sur*. The Gram-negative bacteria appeared unaffected by any plant extract tested, whereas the Gram-positive bacteria and fungi were inhibited by at least several plant species. Among *Ficus* species tested, *F. exasperata* and *F. mucoso* had no significant effect on any microorganism, while *F. sur* appeared among the most active plant species against Gram-positive bacteria [3].

Essien and colleagues (2016) obtained essential oils from leaves of *F. mucoso* (misspelled as “*Ficus mucoso*”) and *Casuarina equisetifolia* by hydrodistillation technique and screened them for chemical content as well as cytotoxic (against human cancer cells) and antimicrobial activities. Microorganisms tested included Gram-positive (*Bacillus cereus* ATCC 14579 and *Staphylococcus aureus* ATCC 29213) and Gram-negative (*Escherichia coli* ATCC 254922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) bacteria and fungi (*Aspergillus niger* ATCC 16401 and *Candida albicans* ATCC 10231). In *F. mucoso*, identified were 35 constituents representing 100% of the leaf essential oil content. The leaf oil was found to be rich in terpenoids (89.6% of its con-

tent), similar to that in *C. equisetifolia* (94.7% of terpenoids). Antimicrobial activity of *F. mucuso* essential oil was generally lower compared to that of *C. equisetifolia*. Gram-positive bacteria appeared more sensitive to the treatments than Gram-negative ones. *P. aeruginosa* showed generally low susceptibility compared to other organisms tested. *F. mucuso* oil was active against *P. aeruginosa* with MIC of 625 µg/ml (the same value for *C. equisetifolia* oil). However, the authors did not discuss regarding which of the identified constituents could most significantly contribute to antimicrobial activity of the analysed essential oils [8].

The crude ethanolic extracts from 50 plant species of 31 family, among which were *F. thonningii* and *F. vallis-choudae*, for *in vitro* activity against Gram-negative (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) and Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes* and *Bacillus subtilis*) bacteria were screened by Koné and co-workers (2004). Only Gram-positive bacteria appeared inhibited by the tested extracts. Of two *Ficus* species examined, only *F. thonningii* leaf extracts showed activity against strains of *E. faecalis* and *S. pyogenes*. Furthermore, it was found one of the most active plant species against these two bacteria, showing inhibitory concentrations (IC₁₀₀) of 94 µg/ml on some resistant strains of *E. faecalis* and of 23-47 µg/ml on hospital strains of *S. pyogenes*. The inhibitory concentrations (IC₁₀₀) was defined as the lowest concentration of crude plant extract at which the visible growth of a strain was completely inhibited (no turbidity in wells) [13].

Kubmarawa and co-workers (2007) carried out an antimicrobial and phytochemical screening of 50 Nigerian plant species ethanolic extracts, among which were five species of *Ficus* (i.e., *F. abutifolia* (Miq.) Miq., *F. platyphylla* Del., *F. polita* Vahl, *F. sycomorus* L., and *F. thonningii* Blume). Microbial strains used in the study were *Bacillus subtilis* NCTC 8236, *E. coli* ATCC 9637, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 13709, and *Candida albicans* ATCC 10231. *Ficus* stem bark extracts demonstrated comparatively low antimicrobial activity, with the broadest activity spectrum being of *F. thonningii* extract (active against all microorganisms except *P. aeruginosa* and *S. aureus*). Extracts from *F. polita* and *F. sycomorus* showed no activity at all. *P. aeruginosa* was in general moderately susceptible compared to other bacteria tested, although no *Ficus* extract was active against it. Phytochemical analysis revealed the presence of only saponins and volatile oil in *F. thonningii* extract and saponins and flavonoids in *F. polita* extract, while richer chemical content was found in *F. abutifolia* (tannins, alkaloids, and volatile oil), *F. platyphylla* (saponins, flavonoids, alkaloids, and volatile oil), and *F. sycomorus* (glycosides, tannins, flavonoids, and volatile oil) extracts. However, the authors do not make any speculations regarding the contribution of particular chemical classes to antimicrobial activity of plant extracts tested. Authors also suggest the presence of some compound classes (such as alkaloids) in plants to be affected by climatic and environmental factors [14].

Phytochemical analysis of the extracts obtained from various parts of *Ficus* spp. showed the presence of flavonoids, tannins, steroids, glycosides, and saponins, as well as absence of alkaloids and amino acids. Total phenolic content of the extract was almost twice as high as total flavonoid content [21, 23].

The broad antibacterial activities of this extract, apparently, could be explained as a result of the plant secondary metabolites. Previously it has been reported [21, 23], that the therapeutic properties of *Ficus* species may be attributed to the presence of a wide range of phytochemical compounds. In general, *Ficus* species were reported to have the rich array of polyphenolic compounds. In particular, flavonoids and isoflavonoids are responsible for the extract's strong antioxidant activity that may be useful in preventing diseases involving oxidative stress [23]. For example, Ali and Chaudhary (2011) have reported that *F. hispida* contains wide varieties of bioactive compounds from different phytochemical groups like alkaloids, carbohydrates, proteins and amino acids, sterols, phenols, flavonoids, gums and mucilage, glycosides, saponins, and terpenes. Two substantial phenanthroindolizidine alkaloids, 6-O-methyltylophorinidine and

2-demethoxytylophorine, and a novel biphenylhexahydroindolizine hispidine from stem and leaves of *F. hispida* were isolated by Venkatachalam and Mulchandani (1982) [31]. Recently, hispidin has been reported to have anticancer activity [2]. All the detected phenolic acids are known to have antimicrobial and antioxidant properties [11].

In line with these general findings, there are copious evidences that various species of genus *Ficus* exhibit antimicrobial properties against broad spectrum of microorganisms. The scientific research on *Ficus* spp. indicated that these plants have received increasing interest in recent years. It is well documented that various *Ficus* spp. have been used against Gram-positive and Gram-negative bacteria [21]. For instance, Rajiv and Rajeshwari (2012) screened antimicrobial activity of *F. religiosa* bark, leaf, stem, and fruit aqueous extracts against a number of major pathogens (*Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Aspergillus niger*, and *Candida albicans*) and conducted their phytochemical analysis. All tested extracts appeared active against the pathogens at concentrations 25-100 mg/ml, the widest inhibition zone (15-16 mm) resulting from the highest concentration. Fruit extract showed generally the weakest activity and only the leaf extract affected the whole set of tested organisms at maximal concentration. Antibacterial properties of the extracts were generally better pronounced than antifungal ones. All extracts at all concentrations tested affected *P. aeruginosa*, although the strongest inhibition showed the maximal concentration extracts from leaves and stems (inhibition zone diameter 14 mm) and slighter effect was produced by bark (13 mm) and fruit (12 mm) extracts. Qualitative phytochemical analysis showed the bark extract to have the richest chemical composition (sugar, alkaloids, phenols, and tannins present), being poorer in fruits (phenols and flavonoids), stem (sugar and tannins), and leaves (only tannins). Glycosides and terpenoids featured all extracts tested. Hence the most specific chemicals appeared to be alkaloids (found only in bark) and flavonoids (only in fruits), while tannins were common for the plant parts with the highest antimicrobial activity in general (i.e., bark, leaves, and stem) [19].

Solomon-Wisdom and co-workers (2011) tested leaf and stem bark methanolic extracts from *F. sur* against several bacterial and fungal pathogens (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimorium*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida pseudotropicalis*) and carried out their phytochemical screening. Leaf extract showed inhibition of all tested organisms except *P. aeruginosa* and *S. typhimorium* at a range of concentrations from 1.0 to 2.5 mg/ml, while stem bark extract was active against the same pathogens at concentrations from 0.5 to 2.5 mg/ml. *P. aeruginosa* was not affected by any of the extracts tested. Phytochemical analysis showed leaf extract to have richer content compared to stem bark extract. Saponins, steroids, and tannins were present in both extracts. Leaf extract additionally contained volatile oils and phenols, while stem bark extract was distinct in containing saponin glycosides [24].

Thagriki and co-workers (2015) studied chemical composition, radical scavenging activity, hydrogen peroxide scavenging radical activity, ferric reducing power, hemolytic inhibition, hemagglutination inhibition, and antibacterial activity of the leaf methanol extracts from *Ficus sycomorus* and *Piliostigma thonningii*. Bacteria tested included *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, and *Staphylococcus aureus*. Antibacterial assay through a broth dilution method resulted in *F. sycomorus* extract to have generally higher inhibitory activity compared to *P. thonningii* extract. In general, no significant difference among tested bacteria was observed as to their susceptibility, but the difference was between the extract concentrations tested (ranging from 2 to 10 mg/ml), the higher concentration resulting in stronger inhibition. The lowest concentration used showed growth inhibition percentage value of 7.55% for *P. aeruginosa*, whereas the highest concentration showed 54.66%. Phytochemical screening of the extracts showed their similar qualitative composition in *F. sycomorus* and *P. thonningii* (alkaloids, tannins, saponins, flavonoids, glycosides, and phenols present, while terpenoids and

steroids absent in both species) with the only difference in the presence of proteins in *F. sycomorus* extract and their absence in *P. thonningii*. The authors suggest that the antibacterial activity of the plant extracts may be due to the strong extraction capacity of methanol producing great numbers of active constituents responsible for this activity [25].

Consequently, the antimicrobial property of *F. mucoso* extract may be due to its constituents. Antibacterial flavonoids might be having multiple cellular targets, rather than one specific site of action [15]. One of their molecular actions is to form complex with proteins through nonspecific forces such as hydrogen bonding and hydrophobic effects, as well as by covalent bond formation. Thus, their mode of antimicrobial action may be related to their ability to inactivate microbial adhesins, enzymes, cell envelope transport proteins, and so forth. Lipophilic flavonoids may also disrupt microbial membranes [15]. It is reported that flavones have been used as Efflux pump inhibitors (EPIs). Flavones also exhibit bactericidal activity by interference with iDNA synthesis. A series of flavones was studied for their DNA-gyrase inhibitory activities. It was proposed that the ring-B of flavones is involved in intercalation or hydrogen bonding with the stacking of nucleic acid bases, thus imparting inhibitory action on DNA and RNA synthesis [22].

Conclusions

The ethanolic extract obtained from *F. mucoso* leaves showed varying inhibitory activities against all the test organisms. Thus, the preliminary screening assay indicated that *F. mucoso* leaves extract possess great potential for the therapy of bacterial infections and may be used as a natural antiseptic and antimicrobial agent. Further investigation needs to be focused on isolation and identification of those bioactive compounds, which would be a platform for further pharmacological studies, *in vivo* tests and practical applications in fish health management.

References

1. AftabUddin, S. Antibacterial function of herbal extracts on growth, survival and immunoprotection in the black tiger shrimp *Penaeus monodon* / AftabUddin S., Siddique M.A.M., Romkey S.S., Shelton W.L. // Fish Shellfish Immunol. – 2017. – 65. – P. 52–58.
2. Ali, M. *Ficus hispida* Linn.: A review of its pharmacognostic and ethnomedicinal properties / Ali M., Chaudhary N. // Pharmacogn. Rev. – 2011. – 5(9). – P. 96–102.
3. Atindehou, K.K. Evaluation of the antimicrobial potential of medicinal plants from the Ivory Coast / Atindehou K.K., Koné M., Terreaux C., Traore D., Hostettmann K., Dosso M. // Phytotherapy Research. – 2002. – 16. – P. 497–502.
4. Bauer, A.W. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method / A.W. Bauer, W.M. Kirby, J.C. Sherris, M. Turck // Am. J. Clin. Pathol. – 1966. – 45(4). – P. 493–496.
5. Berg C.C., Wiebes J.T. African fig trees and fig wasps. Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen, Verhandelingen Afdeling Natuurkunde, 2de reeks, deel 89. North-Holland, Amsterdam, 1992. – 298 p.
6. Berg, C.C. Moraceae – *Ficus*. Flora Malesiana / Berg C.C., Corner E.J.H. // National Herbarium Nederland. The Netherlands, 2005, Ser. I, 17(2). – 1–730.
7. Citarasu, T. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry / Citarasu T. // Aquacult. Int. – 2010. – 18. – P. 403–414.
8. Essien, E.E. Essential oil constituents, anticancer and antimicrobial activity of *Ficus mucoso* and *Casuarina equisetifolia* leaves / Essien E.E., Newby J.M., Walker T.M., Ogunwande I.A., Setzer W.N., Ekundayo O. // American Journal of Essential Oils and Natural Products. – 2016. – 4(1). – P. 1–6.
9. Galina, J. The use of immunostimulating herbs in fish. an overview of research / Galina J., Yin G., Ardó L., Jeney Z. // Fish. Physiol. Biochem. – 2009. – 35. – P. 669–676.

10. Ghosh, R. Hypoglycemic activity of *Ficus hispida* (bark) in normal and diabetic albino rats / Ghosh R., Sharatchandra K.H., Rita S., Thokchom I.S. // Indian J. Pharmacol. – 2004. – 36. – P. 222–225.
11. Jaafar, H.Z. Phenolics and flavonoids compounds, phenylalanine ammonia lyase and antioxidant activity responses to elevated CO₂ in *Labisia pumila* (Myrsinaceae) / Jaafar H.Z., Ibrahim M.H., Karimi E. // Molecules. – 2012. – 17(6). – P. 6331–6347.
12. Kocwowa, E. Ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa, 1981. – P. 78–85.
13. Koné, W.M. Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity / Koné W.M., Atindehou K.K., Terreaux C., Hostettmann K., Traoré D., Dosso M. // Journal of Ethnopharmacology. – 2004. – 93. – P. 43–49.
14. Kubmarawa, D. Preliminary phytochemical and antimicrobial screening of 50 medicinal plants from Nigeria / Kubmarawa D., Ajoku G.A., Enwerem N.M., Okorie D.A. // African Journal of Biotechnology. – 2007. – 6(14) – P. 1690–1696.
15. Kumar, S. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview / Kumar S., Pandey A.K. // ScientificWorldJournal. – 2013. – P. 162–750.
16. Lansky E.P., Paavilainen H.M., 2011. Figs: the genus *Ficus*. In: Hardman R. (ed.) Traditional herbal medicines for modern times. – Vol. 9. CRC Press, Boca Raton. – P. 1–357.
17. Okoth, D.A. Antibacterial and antioxidant activities of flavonoids from *Lannea alata* (Engl.) Engl. (Anacardiaceae) / Okoth D.A., Chenia H.Y., Koorbanally N.A. // Phytochem. Lett. – 2013. – 6. – P. 476–481.
18. Pachanawan, A. Potential of *Psidium guajava* supplemented fish diets in controlling *Aeromonas hydrophila* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*) / Pachanawan A., Phumkhachorn P., Rattanachaikunsopon P. // J. Biosci. Bioeng. – 2008. – 106(5). – P. 419–424.
19. Rajiv, P. Screening for phytochemicals and antimicrobial activity of aqueous extract of *Ficus religiosa* Linn. / Rajiv P., Rajeshwari S. // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2012. – 4. – P. 207–209.
20. Ramudu, K.R. A review on herbal drugs against harmful pathogens in aquaculture / Ramudu K.R., Dash G. // Am. J. Drug Discov. Dev. – 2013. – 3(4). – P. 209–219.
21. Salem, M.Z.M. Antimicrobial activities and phytochemical composition of extracts of *Ficus* species: An over view / Salem M.Z.M., Salem A.Z.M., Camacho L.M., Ali H.M. // Afr. J. Microbiol. Res. – 2013. – 7(33). – P. 4207–4219.
22. Singh, M. Flavones: an important scaffold for medicinal chemistry / Singh M., Kaur M., Silakari O. // Eur. J. Med. Chem. – 2014. – 84. – P. 206–239.
23. Sirisha, N. Antioxidant properties of *Ficus* species, a review / Sirisha N., Sreenivasulu M., Sangeeta K., Chetty C.M. // Int. J. Pharma Techn. Res. – 2010. – 4. – P. 2174–2182.
24. Solomon-Wisdom, G.O. Antimicrobial and phytochemical screening activities of *Ficus sur* (Forssk) / Solomon-Wisdom G.O., Shittu G.A., Agboola Y.A. // New York Science Journal. – 2011. – 4(1). – P. 15–18.
25. Thagriki, D. Comparative biochemical evaluation of leaf extracts of *Ficus sycomorus* and *Piliostigma thonningii* plant / Thagriki D., Dahiru D., Yaduma G.W. // Journal of Medicinal Plants Studies. – 2015. – 3(5). – P. 32–37.
26. Tkachenko, H. Antibacterial activity of ethanolic leaf extracts obtained from various *Ficus* species (Moraceae) against the fish pathogen, *Citrobacter freundii* / Tkachenko H., Buyun L., Terech-Majewska E., Osadowski Z. // Baltic Coastal Zone – Journal of Ecology and Protection of the Coastline. – 2016. – 20. – P. 117–136.
27. Tkachenko, H. *In vitro* antibacterial efficacy of various ethanolic extracts obtained from *Ficus* spp. leaves against fish pathogen, *Pseudomonas fluorescens* / Tkachenko H., Buyun L., Terech-Majewska E., Osadowski Z., Sosnovskiy Y., Honcharenko V., Prokopiv A. // Globalisation and regional environment protection. Technique, technology, ecology. Scientific editors Ta-

deusz Noch, Wioleta Mikołajczewska, Alicja Wesołowska. Gdańsk, Gdańsk High School Publ., 2016. – P. 265–286.

28. Tkachenko, H. *In vitro* antimicrobial activity of ethanolic extracts obtained from *Ficus* spp. leaves against the fish pathogen *Aeromonas hydrophila* / Tkachenko H., Buyun L., Terech-Majewska E., Osadowski Z. // Arch. Pol. Fish. – 2016. – 24. – P. 219–230.

29. Tkachenko, H. Screening for antimicrobial activities of the ethanolic extract derived from *Ficus hispida* L.f. leaves (Moraceae) against fish pathogens / Tkachenko H., Buyun L., Terech-Majewska E., Osadowski Z. // Науч. тр. Дальрыбвтуза (Scientific Journal of DAL-RYBVTUZ). – 2017. – 41. – P. 56–64.

30. Tkachenko, H. The antimicrobial activity of some ethanolic extracts obtained from *Ficus* spp. leaves against *Aeromonas hydrophila* / Tkachenko H., Buyun L., Terech-Majewska E., Osadowski Z., Sosnovskyi Y., Honcharenko V., Prokopiv A. // Тр. ВНИРО (Trudy VNIRO). – 2016. – 162. – P. 172–183.

31. Venkatachalam, S.R. Isolation of phenanthroindolizidinealkaloids and a novel biphenyl-hexahydroindolizine alkaloid from *Ficus hispida* / Venkatachalam S.R., Mulchandani N.B. // Naturwissenschaften. – 1982. – 69. – P. 287–288.

32. Whitman, K.A., MacNair, N.G. Finfish and shellfish bacteriology manual: techniques and procedures. Blackwell Publishing Company, Iowa, USA, 2004.

33. Zar, J.H. Biostatistical Analysis. 4th ed., Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1999.

ПРОМЫШЛЕННОЕ РЫБОЛОВСТВО. АКУСТИКА

УДК 551.465

Е.Н. Бакланов¹, М.В. Мироненко², П.А. Стародубцев^{1,3}, Е.П. Стародубцев³

¹ Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

² Специальное конструкторское бюро средств автоматизации морских исследований ДВО
РАН, 693023, г. Южно-Сахалинск, ул. Горького, 25

³ Тихоокеанское высшее военно-морское училище имени С.О. Макарова,
690006, г. Владивосток, Днепровский переулок, 6

ГОРИЗОНТАЛЬНО РАЗВИТАЯ РАДИОГИДРОАКУСТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА МОНИТОРИНГА ГИДРОФИЗИЧЕСКИХ И ГЕОФИЗИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ ОБЪЕКТОВ И МОРСКОЙ СРЕДЫ

Представлены современные теоретические разработки и экспериментальные исследования использования радиогидроакустических систем в параметрических системах контроля, обеспечивающих мониторинг характеристик гидрофизических и геофизических полей, формируемых техногенными и естественными источниками, сейсмическими процессами и опасными явлениями (например, внутренними волнами, сильными землетрясениями или цунами) на широкомасштабной морской акватории.

Ключевые слова: мониторинг акватории, гидролокация, просветная гидроакустика, внутренние волны, поверхностные волны.

E.N. Baklanov, M.V. Mironenko, P.A. Starodubtcev, E.P. Starodubtcev HORIZONTALLY DEVELOPED RADIOHYDROACOUSTIC SYSTEM OF MONITORING OF HYDROPHYSICAL AND GEOPHYSICAL FIELDS OF OBJECTS AND MARINE ENVIRONMENT

The article presents modern theoretical developments and experimental studies of use of radiohydroacoustic systems in parametric control systems that provide monitoring of the characteristics of hydrophysical and geophysical fields formed by technogenic and natural sources, seismic processes and hazardous phenomena (for example, internal waves, strong earthquakes or tsunamis) on a large-scale marine area.

Key words: water area monitoring, sonar, translucent hydro-acoustics, internal waves, surface waves.

Введение

В настоящее время специалистам в области мониторинга известен способ параметрического приема волн различной физической природы в морской среде, осуществляемый системой, включающей в себя рабочую зону нелинейного взаимодействия и параметрического преобразования волн накачки среды с измеряемыми информационными сигналами, размещенные в среде излучающий и приемный акустические преобразователи, соединенные с ними тракт формирования и усиления излучаемых сигналов, а также тракт приема, обработки, выделения и регистрации принимаемых информационных сигналов. Недостатком указанной системы являются ограниченная дальность параметрического приема ин-

формационных волн, составляющая единицы километров, что особенно проявляется в звуковом и инфразвуковом диапазонах частот [1].

Основная часть

Для устранения данного недостатка авторами статьи предлагается свой вариант, основанный на разработке просветной параметрической системы мониторинга как горизонтально развитой мультистатической, обеспечивающей дальний параметрический прием и измерение характеристик гидрофизических и геофизических полей технических и естественных источников и опасных явлений на широкомасштабной акватории, а также увеличение информационной емкости измерительной системы в целом.

Недостаток существующего подхода решается тем, что в гидроакустической системе параметрического приема волн различной физической природы в морской среде, включающей рабочую зону нелинейного взаимодействия и параметрического преобразования просветных волн, накачки среды с измеряемыми информационными сигналами дополняют тремя излучающими преобразователями и тремя приёмными блоками, которые объединены в горизонтально расположенные треугольники с вершинами, направленными противоположно излучающим преобразователям [2]. При этом приёмный тракт системы дополнительно содержит три линии корреляционного и взаимно корреляционного анализа принимаемых сигналов, которые вместе с линией узкополосного спектрального анализа подключены к приёмным блокам измерительной системы через общий блок переключения и коммутации принимаемых сигналов и каналы радиосвязи. Сам приёмный тракт системы снабжен дополнительным блоком переключения измеряемой информации, который расположен между выходами линий корреляционного анализа и входом линии спектрального анализа. Дополнительно все линии корреляционного и взаимно корреляционного анализа измерительной системы включены последовательно с блоком двухканального широкополосного усиления, двухканального измерения функций их корреляции, измерения функции их взаимной корреляции, блоком многофункционального анализа (ЭВМ) и общим для всех трех линий блоком регистрации измеряемой информации. Выход ЭВМ через радиоблок соединен с информационно-аналитическим центром системы мониторинга, содержащим последовательно соединенные – приёмный радиоблок, блок системного анализа и передающий радиоблок, выход которого по радиоканалу соединен с блоком формирования излучаемых сигналов.

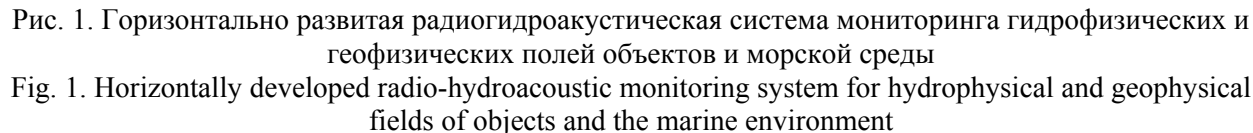
Такая установка способствует оптимальному излучению, распространению и приему просветных сигналов в условиях взаимодействия протяженного гидроакустического канала распространения волн с переменными гидрофизическими полями среды в пределах границ акватории и обеспечивает формирование широкомасштабной и мультистатической системы мониторинга как единой параметрической антенны, а также возможность ее эффективной реализации в задачах мониторинга информационных полей, измерения их спектральных характеристик, определения места источников их формирования на широкомасштабной акватории.

Большой масштаб дальности параметрического приема волн обеспечивается накачкой среды слабозатухающими низкочастотными акустическими сигналами стабильной частоты в диапазоне десятки–сотни герц. Возможность дальнего параметрического приема информационных волн звукового и инфразвукового диапазонов частот достигается за счет формирования протяженного объема взаимодействия волн (пространственной параметрической антенны) [3].

За счет фазового приема и обработки просветных сигналов с пространственно-разнесенных приемных блоков устраняется низкая помехоустойчивость приема и выделе-

Многоканальный и многофункциональный прием, обработка и анализ принимаемых информационных сигналов искусственных и естественных источников, процессов и явлений в широком диапазоне частот существенно расширяют информационные возможности системы мониторинга и ее практическую значимость.

Для реализации просветной радиогидроакустической системы формируют и применяют аппаратный комплекс, представленный на рис. 1, включающий излучающий и приемные тракты, а также их подводные блоки.



Излучающий тракт 1 содержит последовательно соединенные модули: приёмный радиоблок 2, формирователь низкочастотных сигналов стабилизированной частоты 3, трехканальный усилитель мощности сигналов 4, трехканальный блок согласования 5 выходов усилителя с подводными силовыми кабелями и далее с тремя подводными излучателями просветных сигналов 6, 7, 8 [4].

Приемный тракт 9 сформирован как многоканальный и состоит из трех линий корреляционного и взаимно корреляционного анализа 10, 11, 12, каждая из которых включает последовательно соединенные широкополосные усилители 10.1, 11.1, 12.1, блоки измерения функций корреляции информационных сигналов между средним и крайним одиночными приемниками 10.2, 10.3, 11.2, 11.3, 12.2, 12.3 и блоки измерения функции взаимной корреляции 10.4, 11.4, 12.4, выходы которых соединены с входами блока анализа комплексной информации 13 (ЭВМ), выход которого соединен с регистратором измеряемой информации 14, а также с радиоблоком передачи измеряемой информации 15 в информационно-аналитический центр 16. Приемный тракт снабжен блоком переключения линий корреляционного анализа 17, обеспечивающим выборочное измерение узкополосных спектров информационных волн со всех приемных блоков системы, который включен между выходами линий корреляционного анализа и входом линии спектрального анализа 18, включающего последовательно соединенные двухканальный широкополосный усилитель 18.1, блок измерения сигналов разности фаз 18.2, преобразователь временного масштаба сигналов в высокочастотную область 18.3, узкополосный анализатор спектров 18.4 и функционально связанный с ним регистратор (рекордером) выделяемых информационных сигналов 19, а также с входами блока анализа комплексной информации (ЭВМ) 13 [5].

Три линии корреляционного и взаимно корреляционного анализа 10, 11, 12 через общий блок коммутации и переключения принимаемых сигналов 20 соединены с тремя подводными приемными блоками 21, 22, 23, каждый из которых включает по три преобразователя (гидрофона), объединенные в горизонтально расположенные треугольники с вершинами, направленными противоположно излучающим преобразователям.

Информационно-аналитический центр 16 системы мониторинга включает блок системного анализа измеряемой информации 24, соединенный с выходом приемного радиоблока 25 и входом передающего радиоблока 26, а его выход по радиоканалу через приемный радиоблок 2 – с блоком формирования просветных сигналов 3 излучающего тракта 1 системы мониторинга. Кроме того, на схеме обозначены контролируемые сигналы среды: источников геофизических волн 27, источников гидрофизических волн 28, береговых источников 29.

Система работает следующим образом. Подводные излучатели 6, 7, 8 и приемные блоки 21, 22, 23 (не менее трех) горизонтально разносят по противоположным границам свалов глубин обследуемой акватории на необходимое расстояние (десятки – сотни километров) с учетом закономерностей распространения волн в протяженном гидроакустическом канале и раскрепляют их поверхностными радиобуями и донными якорями, что обеспечивает оптимальное распространение просветных сигналов и акустическую подсветку среды [6]. При этом гидрофоны приемных блоков в горизонтальной плоскости разносятся на расстояния не менее 100 м, что обеспечивает возможность использования корреляционных характеристик просветных сигналов в горизонтальной плоскости среды и помехоустойчивое выполнение мониторинга информационных полей при проведении фазовой обработки пространственно-разнесенных просветных сигналов.

Из излучающего тракта 1 подают эталонные сигналы на подводные излучатели 6, 7, 8, которые излучают в контролируемую морскую среду низкочастотные просветные акустические сигналы стабильной частоты. Под действием этих сигналов в толще воды формируется протяженная область возбуждения физических параметров морской среды, которая

выступает в качестве объемной бестелесной антенны. Контролируемые сигналы среды (источников геофизических волн 27, источников гидрофизических волн 28, береговых источников 29) взаимодействуют с этой антенной, модулируя ее сигналы своими параметрами, и совместно формируют общую антенну, содержащую большой спектр параметров исследуемой акватории, что дает возможность получить более емкую характеристику контролируемой среды [7].

Результирующие колебания поступают на приёмный тракт 9, где через блок переключения и коммутации принимаемых сигналов 20 подаются на три линии корреляционного и взаимно корреляционного анализа и одну линию спектрального анализа. В линиях корреляционного анализа происходит широкополосное усиление сигналов, измерение разности фаз сигналов, поступивших с горизонтально разнесённых приёмников, преобразование временного масштаба измеренных сигналов в высокочастотную область, узкополосный спектральный анализ и регистрация измеряемых спектров на общем для трёх линий блоке регистрации 14. После комплексного анализа полученной информации (блок 13) данные поступают на радиоблок передачи 15, откуда по радиоканалу – в информационно-аналитический центр 16, где с использованием ЭВМ 24 определяют принадлежность измеряемых волн к источникам их формирования и места их проявления на широкомасштабной акватории, а также вырабатывают управляющие сигналы (команды) для подстройки работы излучающего тракта 1 в процессе длительного мониторинга.

На рис. 2 представлена качественная картина пространственной структуры зоны Френеля между точками излучения и приема просветных акустических волн как рабочей зоны нелинейного взаимодействия просветной и измеряемых полей (параметрической антенны бегущей волны).

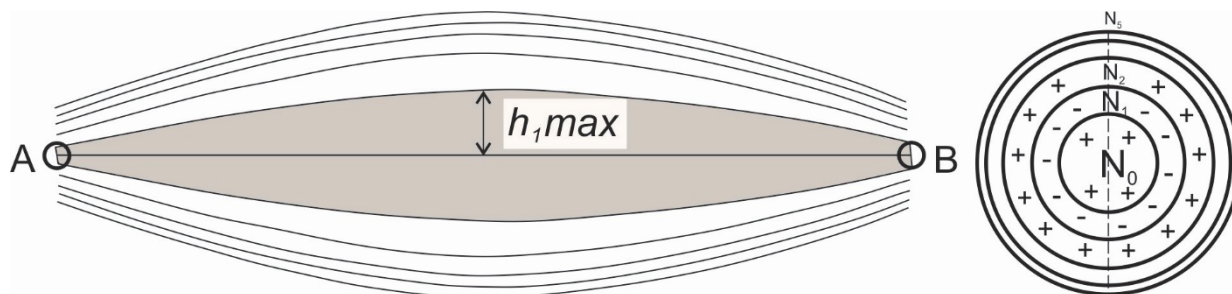


Рис. 2. Качественная картина пространственной структуры зоны Френеля между точками излучения и приема просветных акустических волн

Fig. 2. A qualitative picture of the spatial structure of the Fresnel zone between the radiation points and the reception of luminescent acoustic waves

Результаты морских испытаний предлагаемой системы представлены на рис. 3–7. Они проводились на стационарных и мобильных гидроакустических трассах протяженностью десятки–сотни километров на акваториях дальневосточных морей. Просветные гидроакустические сигналы стабилизированной частоты около 400 Гц излучались подводным маяком наведения (ПЗМ-400), а также забортным излучателем с использованием блока излучателей на частотах 100, 230, 400 и 1000 Гц. В морской части системы мониторинга использовалась донная база с ненаправленными пространственно разнесёнными на 200 м и на 2 000 м приемными блоками. Излучающая и приемная базы посредством морских кабелей соединялись с береговыми лабораториями. В качестве источников информационных полей использовались морские суда, которые маневрировали и многократно пересекали просветные акустические трассы, а также сигналы предвестников сильных землетрясений, зарождающихся в районе Курильской островной гряды. На рис. 3 показан узкополосный

спектр гидрофизического поля морского объекта, зарегистрированного на просветной трассе протяженностью 20 км [8].

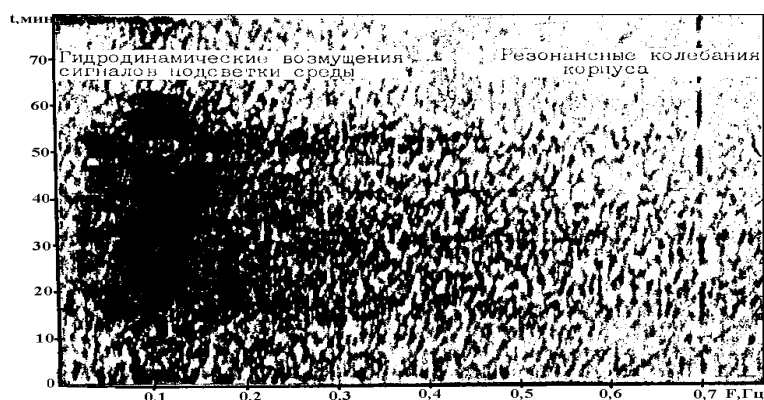


Рис. 3. Узкополосный спектр гидрофизического поля морского объекта
Fig. 3. Narrow-band spectrum of a hydrophysical field of a marine object

На рис. 4 представлена спектрограмма гидродинамических волн, сформированных синоптическими процессами (за время полного прохождения циклона на просветной трассе 345 км).

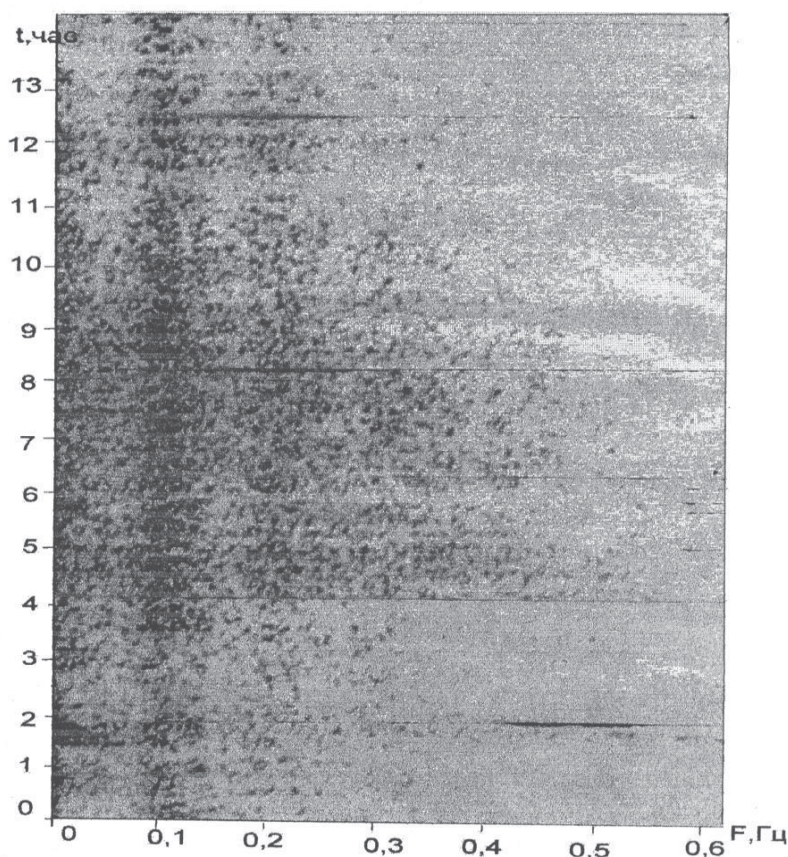


Рис. 4. Спектрограмма гидродинамических волн, сформированных синоптическими процессами
Fig. 4. Spectrogram of hydrodynamic waves formed by synoptic processes

На рис. 5 приведена спектрограмма гидрофизического поля, формируемого береговыми источниками; общая протяженность просветной трассы (о. Сахалин–побережье Приморья) составляла более 300 км [9].

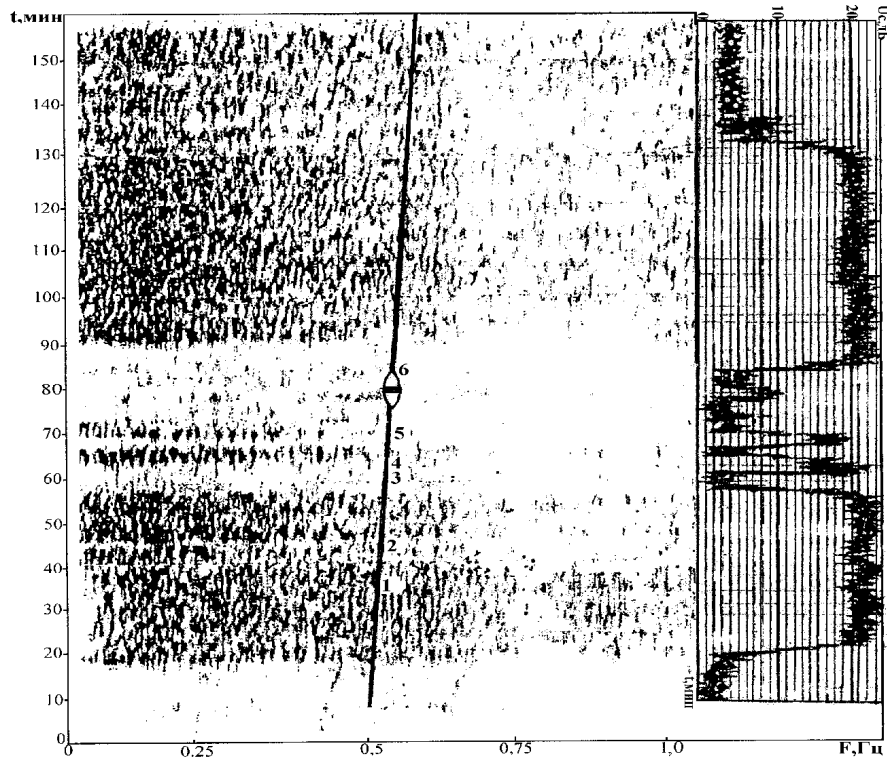


Рис. 5. Спектрограмма гидрофизического поля, формируемого береговыми источниками
Fig. 5. Spectrogram of a hydrophysical field formed by coastal sources

На рис. 6 приведена спектрограмма сейсмических волн, зарождающихся в районе Курильской гряды; прием акустических сигналов проводился на станции мыса Анива о. Сахалин, расстояние около 500 км.

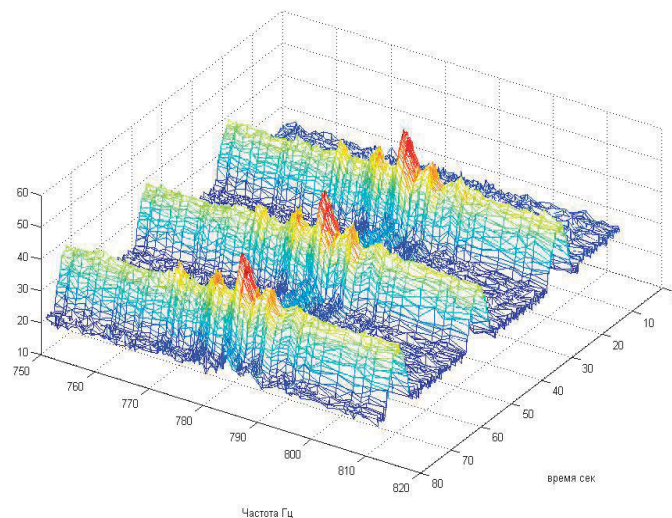


Рис. 6. Спектрограмма сейсмических волн, зарождающихся в районе Курильской гряды
Fig. 6. Spectrogram of seismic waves originating in the area of the Kuril chain

На рис. 7 приведена спектрограмма волн сейсмического фона, зарождающихся в Охотском море [10].

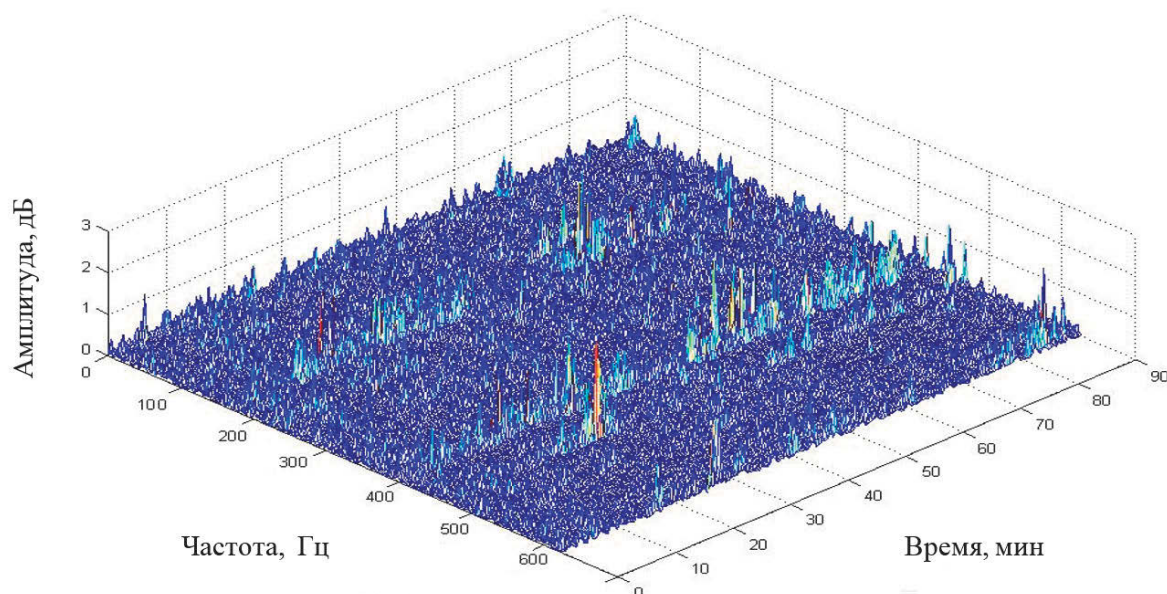


Рис. 7. Спектрограмма волн сейсмического фона, зарождающихся в Охотском море
Fig. 7. Spectrogram of waves of the seismic background originating in the Sea of Okhotsk

Заключение

Таким образом, параметрический прием нелинейно преобразованных просветных волн пространственно-разнесенными приемниками позволяет сформировать и применить горизонтальную просветную гидроакустическую систему как мультистатическую, обеспечивающую мониторинг гидрофизических и геофизических полей источников и явлений на протяженной и горизонтально развитой акватории. Фазовая и корреляционная обработка принимаемых сигналов, обеспечивающая дальний помехоустойчивый прием просветных волн, узкополосный спектральный анализ и выделение из них информационных полей как волн «малых амплитуд», а также определение направлений и координат источников их формирования на горизонтально развитой акватории обеспечивает оперативный анализ комплексной информации и формирование сигналов для корректуры и управления работой измерительной системы в соответствии с изменяющимися условиями и задачами длительного мониторинга измеряемых информационных полей на широкомасштабной акватории [11–12].

Список литературы

1. Стародубцев, П.А. Аттрактно-фрактальная технология дистанционного мониторинга закрытых бухт / П.А. Стародубцев, Н.Л. Халаев // Наукоемкие технологии. – 2012. – Т.13, № 1. – С. 36–41.
2. Стародубцев, П.А. Закономерность формирования интерференционной структуры акустических волн, рассеянных морскими объектами / П.А. Стародубцев, М.В. Мироненко, Е.П. Стародубцев, А.М. Василенко, В.Е. Димидов // Двойные технологии. – 2012. – № 2. – С. 78–84.
3. Стародубцев, П.А. Просветная система мониторинга гидрофизических полей морской среды как низкочастотная многолучевая параметрическая антенна / П.А. Стародуб-

цев, А.М. Василенко, М.В. Мироненко // Датчики и системы. – М.: Изд-во «Сендидат-Плюс», 2013. – № 12(175). – С.41–43.

4. Стародубцев, П.А. Гидроакустическая мультистатическая схема дальнего приема сигналов «малых амплитуд» от сейсмических и синоптических процессов / П.А. Стародубцев, А.П. Шевченко, Е.Н. Бакланов // Науч. тр. Дальрыбвтуза. – Владивосток: Дальрыбвтуз, 2014. – Т. 33. – С. 24–34.

5. Стародубцев, П.А. Организационно-технологические и технические особенности создания Дальневосточной системы освещения и мониторинга морской обстановки / П.А. Стародубцев, М.В. Мироненко, И.Е. Волков // Вестн. Академии военных наук. – 2014. – № 4(49). – С.35–39.

6. Стародубцев, П.А. Мультистатическая схема как структурная основа формирования Дальневосточной радиогидроакустической системы мониторинга морской экономической зоны / П.А. Стародубцев, М.В. Мироненко, Волков, А.П. Шевченко // Вестн. ДВО РАН (Bulletin of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences). – 2015. – Т. 2 (№ 180). – «Науки о земле», раздел «Геология, геофизика». – С. 60–67.

7. Стародубцев, П.А. Некоторые современные теоретические взгляды на процесс реализации просветных систем мониторинга характеристик гидрофизических полей морской среды / П.А. Стародубцев, Е.Н. Бакланов, А.П. Шевченко, М.В. Мироненко // Науч. тр. Дальрыбвтуза. – Владивосток: Дальрыбвтуз, 2015. – Т. 34. – С. 39–44.

8. Стародубцев, П.А. Акустическая томография океана и упрощенный инструментарий ее реализации в мультистатической схеме с целью обеспечения безопасности мореплавания / П.А. Стародубцев, А.П. Шевченко, Е.П. Стародубцев, Е.Н. Бакланов // Науч. тр. Дальрыбвтуза. – Владивосток: Дальрыбвтуз, 2015. – Т. 35. – С. 56–65.

9. Стародубцев, П.А. Новые измерительные технологии параметров океанской среды / П.А. Стародубцев, М.В. Мироненко, Е.Н. Бакланов // Наука сегодня: материалы VII Междунар. науч.-практ. конф. 28 октября 2015 г., НЦ «Диспут». – Вологда, 2015. – С. 7–15.

10. Стародубцев, П.А. Обнаружение акустически слабозаметных морских объектов просветными гидроакустическими системами методом фазового приема и обработки сигналов / П.А. Стародубцев, М.В. Мироненко, С.В. Шостак, Е.Н. Бакланов, А.П. Шевченко // Изв. ЮФУ. Технические науки. Раздел «Гидроакустика и подводная робототехника». – Таганрог, 2016. – № 4. – С. 123–133.

11. Стародубцев, П.А. Практические пути прогнозирования сильных землетрясений с использованием донных гидроакустических систем / П.А. Стародубцев, М.В. Мироненко, Е.П. Стародубцев, Е.Н. Бакланов, К.А. Пичугин // Науч. тр. Дальрыбвтуза. – Владивосток: Дальрыбвтуз, 2017. – Т. 40. – С. 29–34.

12. Стародубцев, П.А. Технология оптимальной оценки направления линейной антенной решетки на источник сигнала при воздействии на нее коррелированных помех с неизвестной функцией распределения / П.А. Стародубцев, С.В. Шостак, Р.Н. Алифанов // Журн. Сибирского Федерального университета. Раздел «Техника и технологии». – Красноярск, 2017. – Т. 10, № 2. – С.249–259.

Сведения об авторах: Бакланов Евгений Николаевич, доцент,

e-mail: baklanoven@mail.ru;

Мироненко Михаил Владимирович, доктор технических наук, профессор,

e-mail: professor@mail.primorye.ru;

Стародубцев Павел Анатольевич, доктор технических наук, профессор,

e-mail: spa1958@mail.ru;

Стародубцев Евгений Павлович, e-mail: spa1958@mail.ru.

УДК 551.465

М.В. Мироненко¹, П.А. Стародубцев^{2,3}, Е.Н. Бакланов³,

¹ Специальное конструкторское бюро средств автоматизации морских исследований ДВО РАН, 693023, г. Южно-Сахалинск, ул. Горького, 25

² Тихоокеанское высшее военно-морское училище имени С.О. Макарова, 690006, г. Владивосток, Днепровский переулок, 6

³ Дальневосточный государственный технических рыбохозяйственный университет, 690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

КРАТКО ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ПЕРЕДАЧИ ИНФОРМАЦИИ ИЗ АТМОСФЕРЫ В МОРСКУЮ СРЕДУ И ОБРАТНО

Рассматриваются особенности и проблемы передачи информации между атмосферой и океаном в аспекте создания систем мониторинга обстановки с применением принципов гидролокации и радиофизики. Приводится перечень научно-исследовательских задач, имеющих значение в данной области, даётся краткий анализ методов и средств их решения, в том числе – нетрадиционных. Предлагаемый подход иллюстрируется примерами экспериментального исследования, реализованного в натурных условиях. Также затрагиваются вопросы изучения процессов генерации и развития внутренних гравитационных волн естественного и искусственного происхождения, их учета при решении прикладных задач.

Ключевые слова: мониторинг акватории, гидролокация, радиолокационное зондирование, просветная гидроакустика, внутренние волны, поверхностные волны.

M.V. Mironenko, P.A. Starodubtcev, E.N. Baklanov

BRIEFLY ABOUT THE FEATURES OF INFORMATION TRANSMISSION FROM ATMOSPHERE TO THE MARINE ENVIRONMENT AND BACK

The features and problems of information transfer between the atmosphere and the ocean are considered in the aspect of creating systems for monitoring the situation using the principles of sonar and radiophysics. A list of research tasks relevant in this field is given, a brief analysis of methods and means for their solution, including non-traditional. The proposed approach is illustrated by examples of experimental research, realized in field conditions. The issues of researching the processes of generation and development of internal gravitational waves of natural and artificial origin, their consideration in solving applied problems.

Key words: water area monitoring, sonar, radar sounding, translucent hydro-acoustics, internal waves, surface waves.

Введение

Научные методы и средства проведения мониторинга динамических и информационных характеристик Мирового океана, основанные на теории гидроакустики, давно и прочно вошли в программы исследований экологических задач и глобальных изменений окружающей среды, а также в решение фундаментальных вопросов физической океанографии.

Учитывая непрерывно возрастающий круг практических задач в этой области, многие современные ученые пытаются обосновать применение радиофизических методов в исследовании гидроакустических и других полей, явлений в Мировом океане [1].

Использование этих методов, обладающих высокой оперативностью и точностью измерения параметров сигналов, наряду с перспективными, например, просветными методами гидролокации, позволяют более адекватно решать многие прикладные задачи.

Становится очевидной необходимость объединения усилий двух научных направлений: гидроакустики и радиофизики. Процесс интеграции направлений требует уточнения

предметных границ, формирования специфичных теоретических основ, расширения понятийно-терминологического аппарата.

Такая очевидная последовательность действий в исследованиях на стыке двух научных направлений сталкивается с существенными трудностями. Причиной является малая изученность применимости типовых методов каждого из указанных научных направлений вне «родных» для себя сред: атмосферы и океана соответственно. Однако общая для них граница – это морская поверхность, в ряде случаев способствует решению задачи, выступая в роли разделительной границы в передаче информации из воздушной среды в морскую и обратно, а иногда даже «накопителя» передаваемой информации.

Эти проблемы и особенности передачи информации из одной среды в другую в интересующем нас аспекте и являются предметом рассмотрения в настоящей научной статье.

Актуальные задачи

Прежде всего следует сформулировать перечень научно-исследовательских задач, имеющих самостоятельное значение в указанных областях и являющихся актуальными при создании единой системы освещения обстановки. К ним на сегодняшнем этапе можно отнести:

1. В области гидролокации:

1.1. Параметрическое взаимодействие волн в упругой неоднородной среде и его использование для регистрации слабых акустических, гидродинамических и электродинамических сигналов.

1.2. Пространственная и временная когерентность распространяющихся сигналов.

2. В области радиофизики:

2.1. Радиолокационное зондирование морской поверхности для дистанционного исследования гидрофизических полей океана.

2.2. Оценка метрологических характеристик используемых радиоприборов.

3. В области непосредственного обмена информацией между её источниками, находящимися по разные стороны относительно морской поверхности:

3.1. Лазерное возбуждение акустических волн на границе раздела двух сред для обмена информацией в направлении «воздух–вода».

3.2. Когерентная радиолокация морской поверхности в вопросах обмена информацией в направлении «вода–воздух».

3.3. Мощные атмосферные источники звука вблизи морской поверхности как объекты наблюдения для гидроакустических средств.

Безусловно, вышеприведённый список направлений исследований в обозначенных областях может быть продолжен. Часть из них относится к старым вопросам, но требующим пересмотра в новой постановке, многие обеспечены совокупностью обоснованных теоретических предпосылок и экспериментальных данных, другие – напротив, находятся в стадии формулировки и предварительного обсуждения.

Вместе с тем при разработке системы освещения больших акваторий решение этих задач на любом уровне является актуальным и полезным. А задачи, решение которых осуществляется в ходе комплексирования методов и средств смежных наук, вызывают большой интерес и приоритет. Но в них, прежде всего, требуется особое моделирование при изучении специфических свойств и эффектов, сопутствующих созданию названной системы.

Очевидно, что создание теоретических моделей для решения подобных задач невозможно без дальнейшего прогресса в области экспериментальных исследований сопутствующих им эффектов, без объединения усилий специалистов разных научных направлений и школ.

Чаще всего у экспериментаторов возникает вопрос: «Что измерять и как проводить измерения»? Ответ на него в нашем случае может дать раскрытие принципов и приёмов, лежащих в решении научно-исследовательских задач нетрадиционными, комплексными методами и средствами. Их подробное рассмотрение и объяснение нашего отношения к ним выходит за рамки данной статьи, однако здесь будет полезно кратко их проанализировать, для того чтобы понять, чего можно ожидать в дальнейшем от этой работы.

Главная цель исследований в области гидролокации заключается в создании более эффективных систем (устройств), которые могут быть использованы при совершенствовании гидролокаторов. Важно разработать некие универсальные исследовательские инструменты, которые можно было бы использовать как при проведении исследовательских работ в области подводной акустики, так и при изучении вопросов, связанных с гидролокацией. От гидролокационных средств в системе освещения обстановки значительных акваторий Мирового океана потребуются большие дальности, точности и вероятности обнаружения и классификации. Это означает, что будущие гидролокаторы должны иметь более узкую характеристику направленности и более широкую полосу частот, а также более совершенную систему обработки сигнала для сохранения заданной помехоустойчивости.

Источники и приёмники звука, использующие принцип параметрического преобразования взаимодействующих волн в нелинейной морской среде, являются хорошим инструментом для исследований, отвечающим перечисленным выше требованиям. Кроме того, они в меньшей степени подвержены ограничениям, обусловленным средой, и к ним применимы как традиционные, так и новые методы обработки сигналов.

Начальной теоретической предпосылкой возможности использования параметрического преобразования для улучшения условий обнаружения акустических сигналов явился известный факт, что в нелинейных (диспергирующих) средах, как и в сосредоточенных системах, при взаимодействии с мощной волной накачки происходит усиление слабого сигнала по мощности, особенно в тех случаях, когда сигнал является субгармоникой волны накачки. Но морская среда является малодиспергирующей, и взаимодействие волны накачки со слабым акустическим сигналом даёт весьма незначительное усиление. Поэтому для повышения эффекта используют различные приёмы введения искусственной дисперсии среды [2].

Вместе с тем видится ещё один способ добиться желаемого эффекта в обнаружении слабых акустических сигналов и при естественных условиях среды, когда искусственной дисперсии в среде не создаётся. Например, если использовать нетрадиционные просветные методы гидролокации, особенно низкочастотные, обеспечивающие повышенные дальности [3]. При этом, однако, необходимо соблюдение вышесформулированного условия, чтобы слабый сигнал или, по крайней мере, его основные энергетические составляющие, являлись субгармониками просветной волны. Для шумового поля реальных подвижных морских объектов, имеющего дискретные составляющие, последнее условие можно считать приемлемым.

Применение просветных систем

Поясним вышеприведённые обстоятельства на примере реализованной и испытанной в натурных условиях низкочастотной просветной системы активно-пассивной гидролокации, томографии и дальней гидроакустической связи [4].

Пусть параметрическому преобразованию в области взаимодействия с просветной волной подвергается слабый, амплитудно-модулированный акустический сигнал, центральная несущая частота которого ω_1 примерно равна частоте просветной волны ω_2 . Таким образом, на входе в нелинейную среду при $x = 0$ задано начальное возмущение вида

$$p_0(t) = a(t) \sin(\omega_1 t + \varphi) + A \cos \omega_2; |a| \ll A, \omega_1 \approx \omega_2 = \omega_0. \quad (1)$$

Здесь A – амплитуда просветной волны; $a(t)$ – огибающая сигнала с модулирующей функцией $S(t)$, адекватной составляющим вально-лопастного звукоряда; $S(t) = S_n \sin(\Omega t + \psi)$. В работе [5] показано преобразование выражения (1) при условии, что $\varphi = 0$, т.е. выполняются оптимальные для усиления фазовые соотношения, а частота усиливаемого сигнала имеет расстройку Ω относительно субгармоники просветной волны.

Так, в результате эффекта автодетектирования модулированной волны в нелинейной среде происходит перераспределение энергии накачки по спектру и, в частности, к появлению новых составляющих на кратных субгармонике частотах. На начальном участке области взаимодействия, когда $\gamma \ll 1$ ($\gamma = 2\omega_0 \beta x$ – безразмерная координата, а β учитывает вязкость морской воды), входной сигнал принимает вид

$$p(t, r) \cong 0,5 A^2 \cos(2\omega_0 t - m_p \sin \Omega t), \quad (2)$$

где $m_p = \frac{2a(1+\gamma)}{\pi A}$.

Его спектр, если при разложении в ряд Фурье периодических функций $\cos(m_p \sin \Omega t)$ и $\sin(m_p \sin \Omega t)$ использовать Бесселевы функции, определится выражением

$$P^*(t) \cong 0,5 A^2 \{ J_0(m_p) \cos 2\omega_0 t + J_1(m_p) [\cos(2\omega_0 - \Omega)t - \cos(2\omega_0 + \Omega)t] + \\ + J_2(m_p) [\cos(2\omega_0 - 2\Omega)t + \cos(2\omega_0 + 2\Omega)t] + J_3(m_p) [\cos(2\omega_0 - 3\Omega)t - \\ - \cos(2\omega_0 + 3\Omega)t] + \dots \}, \quad (3)$$

где $J_n(m_p)$ – функция Бесселя первого рода n -го порядка от аргумента m_p .

Анализ выражения (3) показывает, что спектр взаимодействующих волн состоит из бесконечного числа боковых составляющих, расположенных симметрично относительно удвоенной центральной частоты и сдвинутых относительно её на $n\Omega$, $n = 1, 2, 3, \dots$. Следовательно, для выделения полезного сигнала из смеси «сигнал–накачка» необходима узкополосная фильтрация гармоник просветных волн из спектра поля $P^*(t)$ и анализ их девиации в ходе взаимодействия с сигналом. Способом реализации этого положения является, например, разделение смеси «сигнал–накачка» на два канала и задержка в одном из каналов на период просветной волны с последующим вычитанием сигналов. Разностный сигнал затем и подвергается узкополосному спектральному анализу и регистрации.

Теоретическая основа взаимодействия акустических и электромагнитных волн заключается в том, что электрические токи, генерируемые электромагнитной волной, переходят в Джоулево тепло. Диссипативные потери на ток проводимости в морской среде преобразовываются в тепловые потери, которые в свою очередь изменяют механические характеристики проводящей жидкости (плотность, температуру, теплоемкость и т. д.). При пропускании упругой волны по модулированной в пространстве нелинейной среде ее параметры будут также модулированы за счет изменения фазовой скорости этой упругой волны по трассе распространения. Из-за параметрического нелинейного влияния среды на сигнал спектр упругой волны изменяется, в нем появляются высокие гармоники и низкочастотные составляющие сигнала. За счет эффектов механических потерь в воде упругие волны низкой частоты будут распространяться на большие расстояния, а высокочастотные быстро затухнут. Поскольку область параметрического взаимодействия сигнала с модулированной средой составляет несколько длин упругой волны (сигнала разностной частоты), то в среде формируется диаграмма направленности акустически прозрачной антенны. Тип

антенны и физика формирования диаграммы направленности в этом случае подобна формированию диаграмм направленности нелинейной гидроакустической антенны.

Процесс формирования акустической параметрической антенны можно пояснить обычной системой уравнений гидродинамики для вязкой жидкости при наложении на уравнение состояния изменений фазовой скорости звука во времени и пространстве. Для вычисления скорости распространения упругой (акустической) волны можно применить известную формулу:

$$C(t) = \sqrt{1 / P_0 \beta_{s(t)}},$$

где $\beta_s = -1 / v (\frac{\partial v}{\partial P})_s$ – коэффициент адиабатической сжимаемости жидкости; P – давление;

ρ – плотность; v – удельный объем.

Воспользовавшись соотношением между адиабатической и изотермической сжимаемостью $\beta_s = Gv / G_p \beta_t$, можно получить выражение для фазовой скорости:

$$C(t) = \sqrt{(C_p / C_v)(\partial P / \partial \rho)_t}.$$

Очевидно, что качественно любые изменения плотности ρ , давления P при постоянной температуре приводят к изменению фазовой скорости звука во времени. Это происходит в зоне взаимодействия электромагнитной волны с упругой волной в проводящей морской среде. То есть, в отличие от классических уравнений гидродинамики для идеальной жидкости, которые используются в теории нелинейных параметрических излучателей, в рассматриваемом случае фазовая скорость упругой волны изменяется во времени и пространстве по закону изменения электромагнитной волны. Таким образом, если в рабочей зоне просветной параметрической системы распространяется электромагнитная волна гармонической частоты $\Omega_{эм}$, то фазовая скорость упругой (просветной акустической) волны $C(t)$ будет меняться с той же частотой $\Omega_{зв} = \Omega_{эм}$.

Количественные характеристики глубины модуляции можно получить, используя конкретные инженерные модели реализации способа. Проверка работоспособности идей, являющихся основой предлагаемого изобретения, проводилась при использовании электромагнитных волн для преобразования (модуляции) нелинейных характеристик рабочей зоны взаимодействия. Очевидно, что другие типы нелинейного взаимодействия, в случае положительного явления с электромагнитными волнами, также должны существовать в морской нелинейной среде.

Эксперимент по проверке возможности практической реализации закономерностей, сопутствующих модуляции низкочастотных просветных волн инфранизкочастотными излучениями сторонних акустических источников, проводился в прибрежной зоне Японского моря. Протяжённая гидроакустическая барьерная линия (ГАБЛ) «прозвучивалась» непрерывным низкочастотным гармоническим сигналом. Пролетающий вблизи водной поверхности вертолёт как мощный воздушный источник звука пересекал ГАБЛ и прошедшими в воду слабыми акустическими сигналами модулировал установившееся поле просветных волн.

Результаты обработки данной сигнальной ситуации вышеописанным способом показаны на рис. 1–3. Они могут быть распространены и на решение задачи в области обмена информацией в направлении «воздух–вода».

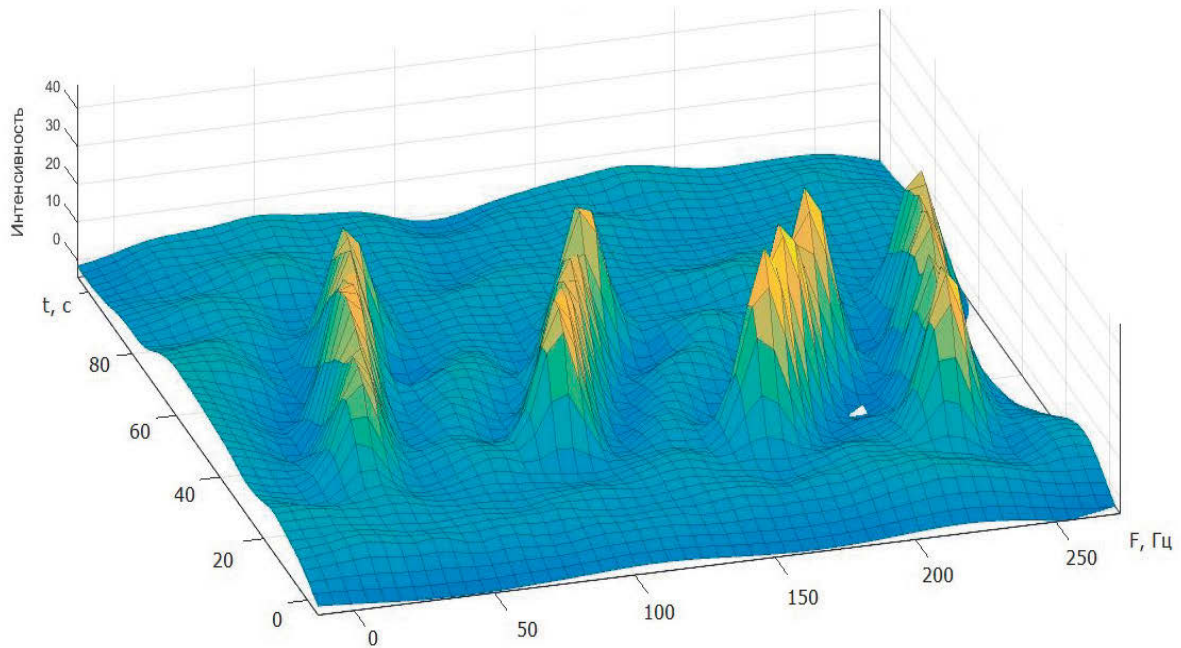


Рис. 1. Спектрограмма шумоизлучения пролетающего воздушного источника
(измерения гидрофоном)

Fig. 1. Spectrogram of the noise emission of a flying air source (measured by hydrophonic)

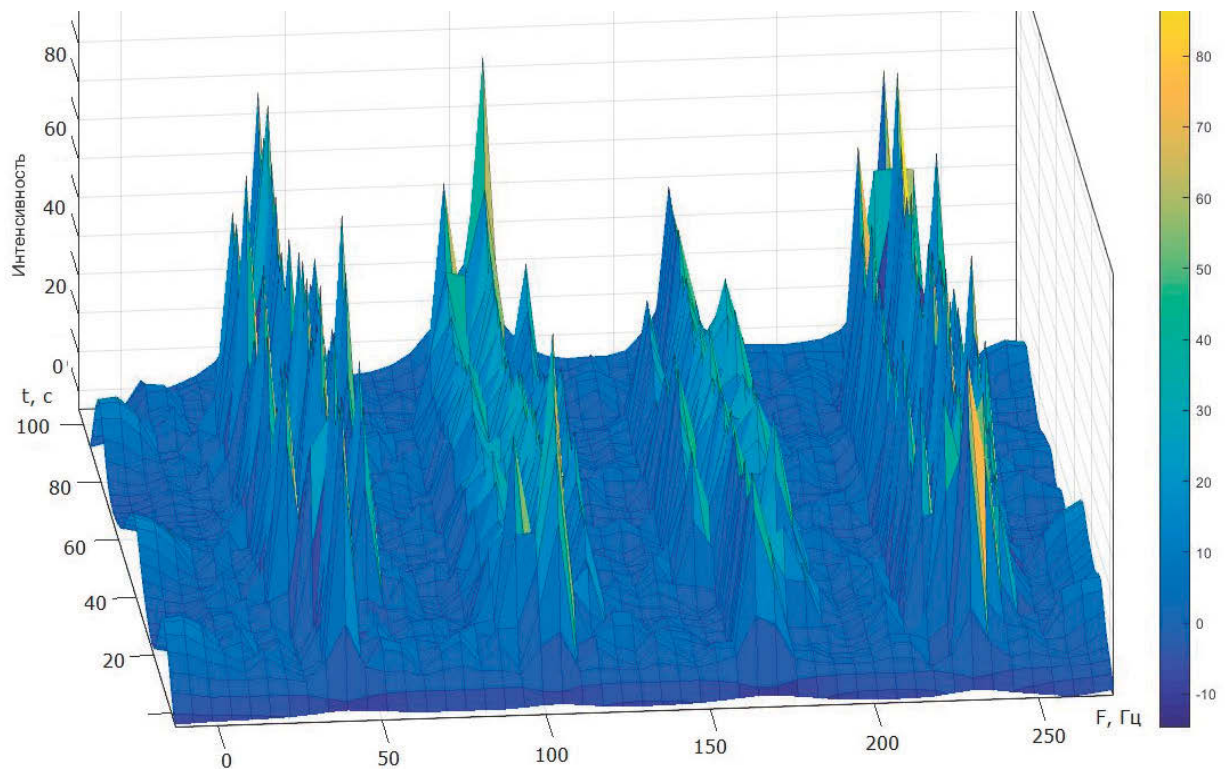


Рис. 2. Спектр шумоизлучения пролетающего воздушного источника (гидроакустические
измерения просветным методом)

Fig. 2. Noise emission spectrum of a flying air source (hydroacoustic measurements
by the luminous method)

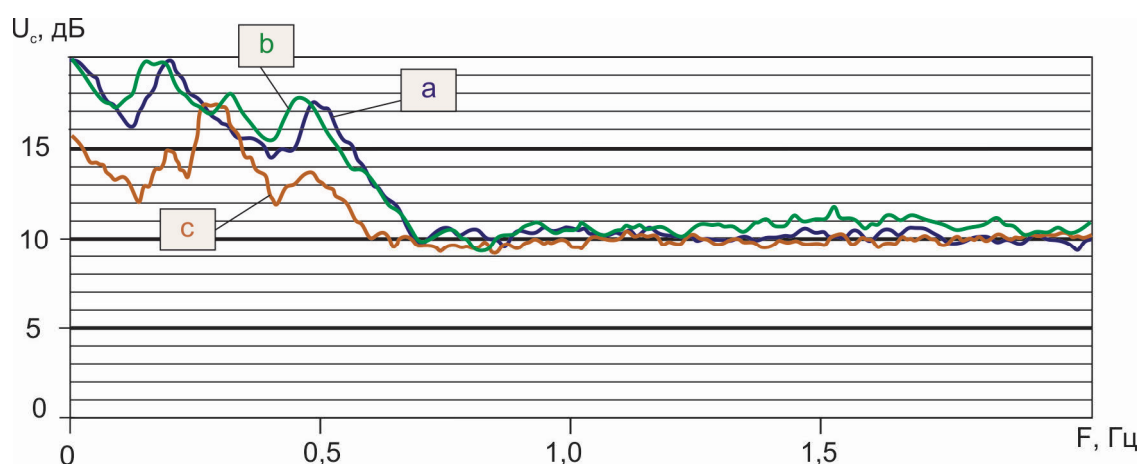


Рис. 3. Результаты регистрации процесса изменения поверхности моря после прохода объекта:
а – волнение поверхности; б – волнение в момент прохода объекта; с – волнение
поверхности после прохода объекта

Fig. 3. Results of recording the process of changing the sea surface after the passage of the object:
a – surface roughness; b – disturbance at the moment of passage of the object; c – disturbance
after the passage of the object

Внутренние волны

Ещё одной задачей в области исследования гидрофизических полей океана, имеющей прикладной характер, является изучение процесса генерации и развития *внутренних гравитационных* волн естественного и искусственного происхождения. Внутренние волны (ВВ) существенно влияют на структуру акустического поля, на характер распространения акустических волн и поэтому имеют самостоятельное значение для акустики океана, на что неоднократно указывал академик Л.М. Бреховских. Кроме этого, ВВ, порождённые движущимися телами в стратифицированной по плотности жидкости, являются ещё одним информационным и энергетическим признаком в физических полях морских объектов и должны быть включёнными в круг рассматриваемых задач из области радиофизики.

При экспериментальном изучении ВВ получили развитие как контактные, так и неконтактные («вынесенные» за пределы водной среды) методы и средства. В силу значительной пространственной протяженности явления ВВ контактные методы требуют разнесения измерительных датчиков на большие расстояния, строгой пространственной и временной их синхронизации, что иногда трудно реализовать. Этому недостатка лишены неконтактные, дистанционные методы и средства, в основе которых лежат радиофизические принципы, например, радиолокационное зондирование морской поверхности. Результаты, полученные в рамках этого научного направления, показали, что они, в частности, могут весьма эффективно обеспечить необходимую периодичность глобальных наблюдений за состоянием морской поверхности и выявление на ней аномалий различного происхождения [6]. Следовательно, данные методы вполне пригодны и для обнаружения аномалий морской поверхности, обусловленных результатом взаимодействия поверхностных (ветровых) и внутренних волн. Особо интересен случай, когда ВВ являются продуктом искусственного происхождения, т.е. когда их генерирует движущийся в стратифицированной морской среде объект, информацию о котором желательно передать в воздушную среду.

Безусловно, для реализации такого подхода необходимо выяснение многих сопутствующих ему вопросов. Каковы параметры ВВ и других возмущений, обусловленных движением объекта в реальной морской среде? Каков результат их воздействия на практиче-

ски постоянно существующие ветровые волны, «ответственные» за формирование рассеянных морской поверхностью радиолокационных сигналов. При этом главным является то, какой «отклик» будет иметь зондирующий сигнал от рассеяния на образовавшейся в результате такого взаимодействия аномалии морской поверхности? Ответ на этот вопрос позволит решить задачу синтеза измерительной аппаратуры, а также составить рабочую методику и программу экспериментальных исследований.

Используя различные подходы и предпосылки в объяснении эффектов взаимодействия внутренних и поверхностных волн, данная задача была решена на инженерном уровне для некоторых моделей океана и типового источника ВВ [7, 8, 9]. Возмущения водной среды, вызванные движением погруженного тела, приводят к поперечным деформациям η водной поверхности. Эти деформации вызываются как перемещениями самого тела (дипольный эффект) η_d , так и действием его кильватерного следа (квадрупольный эффект) η_q . Задача о возмущениях на свободной водной поверхности, которые могут быть вызваны ВВ от движущегося в стратифицированной жидкости источника или коллапсирующего спутного течения, впервые теоретически рассмотрена Миллсом [10], частные аспекты этой задачи исследованы рядом отечественных исследователей [11]. Следуя им, в качестве источника рассмотрим тонкое тело вращения с характерным поперечным R и осевым L размерами, когда $R/L \ll 1$. В случае движения такого тела под тонким слоем скачка плотности в непрерывно стратифицированной жидкости (модель тонкого термоклина) для возмущений поверхности будем иметь

$$\begin{aligned} |\eta_d| &\approx 0,4 R^2 L S^{1/2} (H + |h - H|)^{-9/4} N_h / v^{1/2} X_0^{-1/2}, \\ |h_q| &\approx 0,8 R^4 S^{-5/4} (H + |h - H|)^{-11/4} (N_h / N_H)^2 (v / N_H)^{1/2} X_q^{-1/2}, \end{aligned} \quad (4)$$

где R, L, h, v – радиус, длина, глубина и скорость движения тела; S, H – толщина и глубина термоклина; N_h, N_H – частота Вейселя–Брента на глубине h и H ; X_0, X_q – расстояние, отсчитываемое соответственно от тела и от плоскости, в которой его кильватерный след (КС) начинает коллапсировать, (примерно, через время $t = 1,73/N_H$).

Из анализа (4) следует, что в пределах гипотез, лежащих в основе принятой модели, дипольный эффект преобладает над эффектом КС. Оба эти эффекта достигают своего максимума, если тело движется в пределах термоклина ($h \approx H$), и быстро уменьшаются с увеличением h/H .

Поскольку морская поверхность в обычном своём состоянии является взволнованной, необходимо выяснить воздействие генерируемых движущимся телом ВВ на существующие поверхностные волны (ПВ), что позволит в дальнейшем определить влияние ВВ (в добавление к случайному поверхностному фону) на параметры рассеянных морской поверхностью радиолокационных сигналов.

Длину ПВ $\lambda_{ПВ}$ предполагаем малой по сравнению с длиной ВВ $\lambda_{ВВ}$. Тогда движущаяся картина распределения орбитальной скорости вблизи поверхности, связанная с ВВ, будет восприниматься ПВ как перемещающийся поток. Этот процесс опишется с помощью поля скоростей $U(x, y, t)$, которое является функцией времени и горизонтальных координат, но не имеет вертикальной составляющей. Окончательно, рассматривая ВВ как медленно меняющиеся возмущения по отношению к более быстрым пульсациям ПВ, можно предположить, что последние как бы переносятся в направлении распространения ВВ с некоторой индуцированной скоростью. При этом происходит обмен энергии между течением и налагаемым на него упором ПВ. Решение уравнения баланса энергии для конкретных значений исходных параметров – весьма сложная задача. Вместе с тем имеемые результаты исследований в этом направлении показали, что под воздействием ВВ энергия ПВ изменяется,

прежде всего, в зависимости от соотношения величин фазовых и групповых скоростей взаимодействующих волн и взаимного расположения их векторов. Покажем это.

Для стратифицированной среды с термоклином толщиной S значения групповой C_g и фазовой C_i скоростей ВВ с частотой Ω и волновым числом $k_{ВВ}$ определяются из следующих соотношений [12]:

$$\begin{aligned} C_i &= \frac{\Omega}{k} \approx \frac{N}{k} - \frac{N}{2k} \left(\frac{n\pi}{kS+2} \right)^2, \\ C_g &= \frac{d\Omega}{dk} \approx \frac{NS(n\pi)^2}{(kS+2)^3}, \end{aligned} \quad (5)$$

где n – мода ВВ, причём мода $n=0$ соответствует перемещению термоклина, а моды $n=1, 2 \dots$ – его деформации. Значения же фазовой C_{i0} и групповой C_{g0} скоростей ПВ, подлежащих анализу, необходимо выбирать с учётом выполнения условий резонансного (избирательного) рассеяния радиоволн на статистически неровных поверхностях, коей и является морская поверхность [6].

Для этих условий установлено, что при $C_i < \frac{1}{2} C_{g0}$ длина ПВ уменьшается, и волна исчезает при $C_i \rightarrow \frac{1}{2} C_{g0}$. Напротив, когда выполняется соотношение $\frac{1}{2} C_{g0} < C_i < C_{g0}$, длина ПВ увеличивается, и волна вновь исчезает при $C_i \rightarrow C_{g0}$. При различном взаимном расположении векторов скорости ВВ и ПВ их взаимодействие приводит к рассеиванию последних. Изменение направления распространения ПВ описывается следующим выражением [13]:

$$\frac{\cos \theta}{\cos \theta_0} - d \left(\frac{\cos \theta}{\cos \theta_0} \right)^{\frac{1}{2}} = \operatorname{sgn}(\sin \theta_0) \frac{\alpha (U - C_i)}{C_0} (1 - \cos^2 \theta)^{\frac{1}{2}}, \quad (6)$$

где $\alpha = \frac{C_i}{C_0 - C_i \sin \theta_0}$, а $\cos \theta_0$ – направляющий косинус вектора фазовой скорости ПВ при $U=0$.

Все последние из рассмотренных эффектов взаимодействия внутренних и поверхностных волн приводят к образованию на морской поверхности чередующихся зон с видоизменённой «геометрией» ветрового волнения. Область взаимодействия (поверхностных возмущений) ограничена гиперболами, представляющими пересечение конической поверхности постоянной фазы первой внутренней волны (соответственно от тела и от коллапса КС), т.е. определяется параметрами развивающихся ВВ. В свою очередь, пространственные параметры ВВ, например, за источником единичной интенсивности, можно легко вычислить методом стационарной фазы для заданной модели океана [12, 14].

Этим и объяснялись наблюдаемые некоторыми экспериментаторами так называемые «кольцевые структуры» на экранах индикаторов РЛС при зондировании морской поверхности над траекторией движения погруженного объекта.

Заключение

В качестве основного вывода можно отметить, что представленные аналитические и экспериментальные исследования достаточны для раскрытия подхода к решению задач, сопутствующих созданию системы освещения больших акваторий Мирового океана. Задачи являются многоплановыми, сложными для решения специалистами одного профиля.

Поэтому доведение их до практической реализации требует координированного участия в теоретических и экспериментальных исследованиях специалистов нескольких научных направлений.

Список литературы

1. Методические указания по комплексному использованию спутниковой информации для изучения морей / под ред. С.В. Викторова. – Л.: Гидрометеиздат, 1990. – 2000 с.
2. Руденко, О.В. Теоретические основы нелинейной акустики / О.В. Руденко, С.П. Солюян. – М.: Наука, 1975.
3. Мироненко, М.В. Измерительные технологии акустического «просветного» метода гидролокации в решении задач мониторинга и освоения морских акваторий / М.В. Мироненко, С.П. Петроченко, Д.Д. Минаев, Л.В. Губко // Акустика океана: доклады 9-й науч. школы-семинара акад. Бреховских, совмещенной с 12-й сессией РАО. – М.: ГЕОС, 2002. – С. 359–364.
4. Турмов, Г.П. Низкочастотные томографические системы мониторинга морских акваторий / Г.П. Турмов, М.В. Мироненко, В.И. Короченцев // Сб. ст. «ПМРЭВ ВТ ВМФ», ТОВВМУ им. С.О. Макарова. – Владивосток, 1999. – № 21. – С. 47–60.
5. Мироненко, М.В. Помехоустойчивость приема информации при реализации просветного метода гидролокации морских акваторий / М.В. Мироненко, С.В. Шостак, Т.А. Мироненко, Л.В. Губко // Акустика океана: доклады 9-й науч. школы-семинара акад. Бреховских, совмещенной с 12-й сессией РАО. – М.: ГЕОС, 2002. – С. 381–386.
6. Ушаков, И.Е. Радиолокационное зондирование морской поверхности / И.Е. Ушаков, И.Ф. Шишкин. – М.: РИЦ «Татьянин день», 1997. – 264 с.
7. Черкесов, Л.В. Поверхностные и внутренние волны / Л.В. Черкесов. – Киев: Наукова думка, 1973.
8. Глинский, Н.Т. Внутренние волны в океанах и морях / Н.Т. Глинский. – М.: Наука, 1973.
9. Филиппс, О.М. О взаимодействии внутренних и поверхностных волн / О.М. Филиппс // Изв. АН СССР – ФАО. – 1973. – Т. 9, № 9.
10. Miles, J.W. Internal waves generated by a moving body / J.W. Miles // Geophysical Fluid Dynamics. – 1972. – № 1.
11. Смородин, А.И. О волнах на поверхности жидкости при движении погруженного эллипсоида вращения / А.И. Смородин // ПММ. – 1972. – Т. 36, вып. 1.
12. Keller, J. Internal wave wakes of a body moving in a stratified fluid / J. Keller, W. Munk // Phys. Fluids. – 1970. – Vol. 16, № 6.
13. Jargett, A.E. On the interactions of surface and internal wave / A.E. Jargett, B.A. Hughes // J. Fluid Mech. – 1972. – Vol. 52, № 1.
14. Hudimac, A.A. Ship waves in a stratified ocean / A.A. Hudimac // J. Fluid Mech. – 1961. – Vol. 11, № 2.

Сведения об авторах:

Мироненко Михаил Владимирович, доктор технических наук, профессор,
e-mail: professor@mail.primorye.ru;

Стародубцев Павел Анатольевич, доктор технических наук, профессор,
e-mail: spa1958@mail.ru;

Бакланов Евгений Николаевич, доцент, e-mail: baklanoven@mail.ru.

СУДОВЫЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ УСТАНОВКИ, УСТРОЙСТВА И СИСТЕМЫ, ТЕХНИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА СУДОВОЖДЕНИЯ, ЭЛЕКТРООБОРУДОВАНИЕ СУДОВ

УДК 519.876.5+681.3

А.А. Недбайлов

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

КОМПЬЮТЕРНЫЕ МОДЕЛИ ЭЛЕМЕНТОВ АВТОМАТИКИ НА МОБИЛЬНЫХ УСТРОЙСТВАХ В УЧЕБНОМ ПРОЦЕССЕ

Проведено исследование прикладного программного обеспечения информационно-образовательной среды университета с целью определения его возможностей по обеспечению всех видов учебной деятельности. Определены сферы применения мобильных устройств (в том числе тех, что имеют студенты) в учебном процессе. Предложены программные средства, моделирующие элементы автоматики, используемые на судах рыбопромыслового флота и предприятиях пищевых производств. Оценено применение мобильных устройств при создании стендов и мини-тренажёров.

Ключевые слова: моделирование, мобильные устройства, программы.

A.A. Nedbaylov

COMPUTER MODELS OF AUTOMATION COMPONENTS ON MOBILE DEVICES IN THE EDUCATIONAL PROCESS

A study on application software of the informational and educational environment of the university was conducted to determine its capabilities to provide all types of educational activities. The scope of application of mobile devices (including those owned by students) in educational process is defined. Software for modelling automation components used on fishing vessels and food-processing enterprises is suggested. The use of mobile devices in the creation of stands and mini-simulators is evaluated.

Key words: modelling, mobile devices, software.

Объём учебной информации, который необходим студентам для формирования профессиональных компетенций [1, 2], достаточно велик. Для её изучения и усвоения в ходе учебного процесса есть аудиторная деятельность (теоретическая – лекции и практическая – лабораторные работы и/или практические занятия) и самостоятельная работа. Следует отметить, что объём аудиторной работы относительно невелик в сравнении со временем, которое даётся для самостоятельной работы. Дополнительным фактором, усложняющим ситуацию, на который надо обратить внимание, является не столь высокий уровень подготовки абитуриентов. По этим причинам возникает необходимость в интенсификации учебного процесса и применении таких методов обучения, которые позволили бы успешно решать поставленные задачи.

Для технических специальностей важным является практическая деятельность, в ходе которой закрепляются теоретические знания. В результате студенты получают необходимые им навыки и умения. Обеспечение практических занятий по изучаемым предметам профессиональной направленности требует наличия в достаточном количестве лабораторного оборудования. Это могут быть как лабораторные стенды и установки, так и реальные

устройства, которые используются, например, на судах рыбопромыслового флота и предприятиях пищевых производств. Однако не всегда такое оборудование имеется, особенно его новые образцы. Кроме этого, не всякое оборудование можно разместить в вузовских аудиториях. В таких случаях существенную помощь могут оказать компьютерные модели устройств, являясь одним из компонентов информационно-образовательной среды (ИОС) университета [4, 5].

В настоящее время техническая компонента ИОС университета включает компьютерные классы, оснащённые настольными компьютерами под управлением операционной среды Windows с базовым прикладным программным обеспечением, объединённые в единую сеть, и специализированные тренажёры, также организованные в виде компьютерных классов. В таком состоянии достаточно хорошо обеспечиваются практические занятия как по предметам информационно-коммуникационной тематики, так и ряду специальных дисциплин. Однако использование классов в теоретической части учебного процесса (например, проведение лекции-практики) возможно только в тех случаях, когда учебные группы невелики и компьютерные классы доступны в расписании занятий. Обеспечение работы студентов средствами вычислительной техники в специализированных кафедральных лабораториях общетехнических или специальных дисциплин (таких, как электротехника, полупроводниковые приборы, автоматика) практически невозможно, в том числе и из-за санитарных норм, в соответствии с которыми для размещения одного компьютера с жидкокристаллическим монитором необходима площадь $4,5 \text{ м}^2$ [3]. Самостоятельной работой студенты могут заниматься в компьютерных классах. В то же время, как показала практика, они пользуются этой возможностью в очень небольшом количестве случаев. Требовать от студентов выполнения репродуктивных и тем более творческих заданий дома проблематично по причине отсутствия у них необходимого для этого лицензионных программных средств.

В то же время сейчас очень широка номенклатура малогабаритных мобильных устройств – планшетов, обладающих вполне достаточными для выполнения расчётов вычислительными мощностями. Практически у каждого студента имеется смартфон, который тоже вполне успешно можно использовать для выполнения вычислений учебного характера. Проблема в их использовании в том, что необходимо прикладное программное обеспечение, которое позволило бы применять мобильные устройства во время лекций и лабораторных работ. Обеспечение самостоятельной работы несколько отличается по своей методике, но тем не менее программные средства для этого вида деятельности тоже нужно подготовить.

Цель исследования – создание прикладного программного обеспечения для мобильных устройств, пригодного для использования во время теоретических и практических занятий, а также в ходе самостоятельной работы студентов.

Объектом исследования является программное обеспечение учебного процесса для технических специальностей. Предмет исследования – прикладное программное обеспечение для моделирования и расчёта электрических цепей, в составе которых имеются элементы устройств автоматики.

Актуальность темы заключается в необходимости интенсифицировать учебный процесс в условиях определённого недостатка аудиторных занятий для студентов технических специальностей при увеличении в то же время объёма самостоятельной работы, в ходе которой по специальным дисциплинам могут быть проведены эксперименты с компьютерными моделями и на этой основе сделаны соответствующие выводы.

Новизна темы заключается в отсутствии прикладного программного обеспечения, которое может использоваться во время любых форм занятий.

Как показал анализ анкет студентов, от 50 до 70 % их мобильных устройств работает под управлением операционной системы Android. Поэтому и разработка прикладных программ, моделирующих элементы и функциональные устройства судовой автоматики и автоматики технологического оборудования, будет выполняться для этой операционной системы.

Обращение к Интернет-ресурсу Google, на котором размещаются прикладные программы для операционной системы Android, по двум направлениям – инструментарий и образование [6, 7] показало, что количество программ, которые студенты могли бы использовать для моделирования элементов и узлов автоматики судов и пищевых производств, невелико.

Одна из них, программа Circuit Builder, предназначена для конструирования базовых вариантов цепей постоянного и переменного токов [8], оптимизирована для планшета. На данном этапе может оперировать с ограниченным числом номиналов элементов. В вузе может использоваться для самостоятельной работы. Язык интерфейса английский. Является платной.

Другая программа, Droid Tesla, достаточно простая, но в то же время мощная программа моделирования электрических цепей [9]. В ней доступно использование как базовых элементов, так и основных измерительных приборов. Язык интерфейса тоже английский. Является платной.

Ещё одна программа, Every Circuit, может использоваться для моделирования небольших электронных схем [10]. Выбор элементов относительно невелик по сравнению с Droid Tesla. Язык интерфейса английский. Является платной.

Все указанные выше программы можно использовать для обеспечения самостоятельной работы студентов. Опрос, проведённый в апреле–мае, показал, что те, кто мог бы установить их в свой смартфон, находятся в группах в меньшинстве.

Следовательно, для решения вопроса использования мобильных устройств во время лекций или лабораторных работ необходимы программы, которые бы обеспечивали:

- моделирование нескольких элементов, предназначенных для решения определённой задачи (например, терморезисторы);
- моделирование нескольких функциональных устройств, предназначенных для выполнения определённой функции (например, выпрямители);
- быстрый выбор моделируемого элемента или устройства из числа доступных;
- оперативное изменение параметров элемента и окружающей среды;
- оперативное изменение параметров функциональных устройств;
- оперативный расчёт и перерасчёт измеряемых параметров;
- сопоставление результатов для того, чтобы ответить на такие, например, вопросы:
 - что общего в результатах исследования модели;
 - в чём разница между элементами;
 - в предложенной рабочей ситуации выбор какого элемента был бы предпочтительным;
 - по каким параметрам можно сделать этот выбор.

Выбор элементов и функциональных устройств автоматики для моделирования выполнен с учётом пожеланий работников предприятий рыбной отрасли.

В то же время среди пожеланий присутствовали предложения несколько иного плана, касавшиеся моделирования систем управления, причём с применением микроконтроллеров, которые активно используются в системах автоматики судового и технологического оборудования.

Проведено дополнительное исследование возможностей реализации этих предложений. В результате скорректирован и расширен перечень элементов и функциональных устройств, модели которых будут подготовлены с учётом возможности использования их в

качестве датчиков устройств автоматики. Подготовлены для реализации системы управления, моделирующие применение таких датчиков.

Любая система управления имеет в своём составе элементы, с помощью которых аналоговый сигнал, получаемый от датчика, преобразуется в цифровой вид, который пригоден для приёма микроконтроллером. Кроме этого, необходимы устройства, с помощью которых реализуются управляющие воздействия, и элементы индикации или вывода информации. Вариантов решения этих задач достаточно много. При выборе одного из них учитывалась тематика дисциплин, которые читаются на кафедре, и возможности технического обеспечения этих дисциплин.

Поскольку в данном случае решается задача разработки программных средств для моделирования элементов автоматики, предложено в рамках одной программы интегрировать теоретическую модель с исследованием реального объекта (например, терморезистора). В таком случае мобильное устройство может выполнять как функции генерации и передачи управляющих воздействий, так и принимать и отображать информацию, которая может быть получена в ходе эксперимента.

Было предпринято изучение интерфейсов мобильного устройства, через которые можно было бы передавать и принимать информацию. Наиболее удобными оказались беспроводные интерфейсы, из которых был выбран Bluetooth. Небольшая дальность, на которой возможно его функционирование, вполне достаточна для решения поставленных задач. Этот интерфейс есть как на планшетах, так и в смартфонах.

Изучение доступных для выбора микроконтроллеров привело к выбору не отдельной микросхемы, а платформы Arduino, для которой имеется достаточное количество датчиков, исполнительных механизмов и средств отображения информации. Кроме этого, широк выбор дополнительных модулей, предназначенных для решения самых разнообразных задач. Выбор проведён с учётом возможного использования платформы в лабораторных работах по дисциплинам, читаемым на кафедре.

На выбор повлиял и тот факт, что программирование ведётся на языке высокого уровня и среда программирования бесплатна, что в перспективе позволяет организовать самостоятельную работу студентов.

Платформа Arduino в своём составе имеет несколько вариантов устройств, которые отличаются вычислительными возможностями, объёмом памяти, количеством аналоговых и цифровых входов и выходов, а также размерами. Поэтому в дальнейшем для решения конкретных задач можно будет выбрать устройство с достаточными возможностями (и стоимостью).

Среди модулей, которые можно использовать с устройствами платформы Arduino, есть и те, что обеспечивают беспроводные интерфейсы, в том числе и Bluetooth.

Обращение к сайту Google показало, что разработано значительное количество программ, предназначенных для управления внешним оборудованием через беспроводной интерфейс. Чаще всего объектами управления являются малогабаритные транспортные средства (колёсные и гусеничные модели).

Так, например, программа Arduino Bluetooth Controller для находящегося на некотором расстоянии устройства Bluetooth позволяет задать команды управления, ранее сформированные пользователем [11]. Имеет настраиваемые кнопки. Отсутствует приём информации от управляемого устройства.

Другая программа Bluetooth Control for Arduino управляет релейным модулем из четырёх реле [12]. У неё также отсутствует приём информации от управляемого устройства.

В ходе поиска не были обнаружены программы, предназначенные для управления нестандартными внешними модулями, предназначенными для исследования объектов опре-

делённого назначения. Отсутствуют и программы, в которых интегрированы теоретические модели и исследование реальных объектов.

На следующем этапе для выбранных объектов были определены как те параметры, что будут использоваться в математических моделях этих объектов, так и несущественные для поставленных задач (так как они не влияют на результаты моделирования с точки зрения понимания студентами особенностей функционирования элементов и узлов автоматики). Ко вторым были отнесены:

- отклонение номиналов элементов в процентах от числовых значений рядов E24 и E12;
- внутреннее сопротивление источника питания;
- точность измерений основными приборами (вольтметр, амперметр и т.п.).

Поскольку в качестве среды выполнения моделирующих программ выбрана операционная система Android, программы подготовлены на языке Java. Определены варианты представления измеряемых параметров в графическом виде. Подготовлен интерфейс «программа–пользователь». Подготовлен тестовый вариант программы – исследование терморезисторов, которые часто используются в качестве датчиков систем управления разного уровня. Число исследуемых элементов 6 (ММТ-1, ММТ-4, ММТ-6, ММТ-13, КМТ-12, КМТ-17). Выполнена отладка программы. Проведён эксперимент по использованию программы студентами бакалаврами-электроэнергетиками второго курса и магистрантами-технологами первого курса. Получены их отзывы и оценки.

Отзывы студентов и магистрантов Feedback from students and master's degree students

Оценочный параметр	Бакалавры	Магистранты
Состав группы	9 человек	6 человек
Возможность использования программы на лекции (максимальный балл 10)	6,9	7
Возможность использования программы на практическом занятии (максимальный балл 10)	8	8,5
Удобство использования программы (максимальный балл 10)	8,2	8,5
Оценка функциональных возможностей программы	Достаточно – 8 Надо больше – 1	Достаточно – 6
Возможность использования программы для проверки результатов своей работы на практике (максимальный балл 10)	7,9	8,8
Использование программы для самостоятельной работы с подготовкой отчёта по результатам исследования (максимальный балл 10)	6,1	6,8
Готовность установить подобную программу на свой смартфон с системой Android	Да – 4 из 5	Да – 3 из 4

Оценки студентами заочного обучения (группа из 3 человек) по всем вопросам оказались максимальными.

Обсуждены предложения, касающиеся построения программы двойного назначения, которая, кроме компьютерной модели, обеспечивала бы возможности управления экспериментальной установкой, в которую был бы включён реальный экземпляр исследуемого объекта (в данном случае терморезистора). Предложена модель системы управления таким экспериментом, построенная на базе микроконтроллера.

На основании вышесказанного можно сделать вывод о целесообразности применения моделей элементов и функциональных узлов автоматики, разработанных для мобильных

устройств, в учебном процессе. Программные средства могут быть подготовлены на основе предложений профессорско-преподавательского состава. Эти программы в любое время могут быть дополнены с целью увеличения количества моделируемых объектов и/или функциональных возможностей. Интерфейс программ удобен и не вызывает проблем с его освоением. Обеспечен быстрый переход от одной программы к другой, повышая, таким образом, информационную мобильность в ходе занятия. Программные модели для мобильных устройств можно применять на планшетах и смартфонах на всех этапах учебного процесса. Большинство из опрошенных студентов выразили готовность установить такие программы в свои смартфоны.

Мобильные устройства с соответствующим программным обеспечением могут быть важным элементом ИОС. Необходимо учитывать тот факт, что в комплекте с управляющими микроконтроллерами они обеспечат информационно-управляющее взаимодействие практически со всеми энергетическими установками, средствами судовождения, электрооборудованием, позволят создавать ситуационные стенды и тренажёры.

Список литературы

1. ФГОС ВО по направлению подготовки 13.03.02 «Электроэнергетика и электротехника» (уровень бакалавриата).
2. ФГОС ВО по направлению подготовки 15.03.02 «Технологические машины и оборудование» (уровень бакалавриата).
3. Гигиенические требования к персональным электронно-вычислительным машинам и организации работы: Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. – 54 с.
4. Анофрикова, Н.С. Электронно-образовательная среда СГУ и её возможности для организации обучения // Н.С. Анофрикова, Е.М. Шихова [Электронный ресурс]: filearchive.cnews.ru/img/reviews/2015/12/04/otchet_elektronnaya_obrazovatel'naya_sreda_final_15.pdf (дата обращения 3.03.2016).
5. Электронная информационно-образовательная среда ТвГТУ [Электронный ресурс]: <http://cdokp.tstu.tver.ru/site.services/download.aspx?act=1&dbid=marcmain&did=110500> (дата обращения 29.08.2016).
6. Электронный ресурс. – Режим доступа: <https://play.google.com/store/apps/category/TOOLS>.
7. Электронный ресурс. – Режим доступа: <https://play.google.com/store/apps/category/EDUCATION>.
8. Электронный ресурс: – Режим доступа: <https://play.google.com/store/apps/details?id=air.com.ljcreate.virtualElectricalCircuitsTrainer>.
9. Электронный ресурс. – Режим доступа: <https://play.google.com/store/apps/details?id=org.vlada.droidteslapro>.
10. Электронный ресурс. – Режим доступа: <https://play.google.com/store/apps/details?id=com.everycircuit.free>.
11. Электронный ресурс. – Режим доступа: <https://play.google.com/store/apps/details?id=com.giumig.apps.bluetoothserialmonitor>.
12. Электронный ресурс. – Режим доступа: <https://play.google.com/store/apps/details?id=dev.merahkamarun.arduino bluetoothrelay4ch>.

Сведения об авторе: Недбайлов Александр Андреевич, доцент,
e-mail: teach_it@mail.ru.

ТЕХНОЛОГИЯ И УПРАВЛЕНИЕ КАЧЕСТВОМ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

УДК 664.95:593.92

В.Д. Богданов, С.Н. Максимова, Н.Г. Тунгусов, Е.В. Шадрина, Е.М. Панчишина
Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

ОБОСНОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ИЗ МОРСКИХ ЗВЕЗД

Представлены материалы по разработке технологии кормовой добавки из морских звезд, представленной комбинацией ферментативного и экстракционного способов обработки сырья и полуфабриката. Обоснованы очередность операций и их технологические параметры. Приведена оценка качества готового продукта.

Ключевые слова: морские звезды, технология, комбинация, ферментализ, экстракция, качество, кормовая добавка.

V.D. Bogdanov, S.N. Maksimova, N.G. Tungusov, E.V. Shadrina, E.M. Panchishina **THE RATIONAL OF COMBINED TECHNOLOGY OF THE FEED ADDITIVE FROM** **THE SEA STARS**

This article represents the materials of development feed additive technology from the sea stars represented by a combination of enzymatic and extraction methods of processing raw materials and semi-finished product. It justifies the sequence of operations and their technological options. The quality characteristics of the finished product is given.

Key words: sea stars, technology, combination, the enzymatic hydrolysis, extraction, quality, feed additive.

В результате проведенных экспериментальных работ установлена целесообразность получения кормовых продуктов из морских звезд, образующих массовое скопление в разные периоды в бухте Северной Хасанского района и зал. Босфор Восточный Приморского края [1].

Ранее нами обоснованы способы получения кормовых продуктов методами прямой сушки, экстракции и ферментирования, каждый из которых имеет ряд недостатков, связанных с биологическими особенностями нетрадиционного сырья [2, 3, 4].

Разработка комбинированной технологии кормовой добавки из морских звезд позволит использовать достоинства каждого из названных способов и устранить их недостатки, таким образом, повысить эффективность технологического воздействия на сырье и полуфабрикат и повысить качество, в том числе биологическую ценность готового продукта.

Цель научных исследований состояла в разработке новой комбинированной ферментативно-экстракционной технологии кормовой добавки из морских звезд.

В качестве сырья в работе использовали мороженые морские звезды – эвастерию колючую (*Evasterias echinosoma*), патирию гребешковую (*Patiria pectinifera*).

Для проведения исследований морские звезды размораживали на воздухе при температуре окружающей среды до температуры 2–4 °С.

В качестве ферментного препарата рекомендуется использовать: протосубтилин (120 ПЕ/г), коллагеназу (165 ПЕ/г), протамекс (400 ПЕ/г).

Сушку образцов осуществляли на электросушилке инфракрасного излучения «ЭС-БИК-1,25/220» «Икар» с конвекцией воздуха, при температуре 50–55 °С.

Определение химического состава образцов проводили согласно стандартным методам по ГОСТ 7636-85 [5]. Массовую долю липидов определяли по методу Блайя и Дайэра [6].

Определение содержания макро- и микроэлементов и токсичных металлов в образцах осуществляли в соответствии с ГОСТ: 26927, 26929, 26930, 26932, 26933, 30178, 30538, Р 51301 – на атомно-абсорбционном спектрофотометре фирмы Nippon Jarell Ach модель АА-885. В качестве атомизатора использовали однощелочную горелку и пламя ацетилен–воздух.

Оценку качества по органолептическим, физико-химическим и ветеринарно-санитарным показателям кормовой добавки проводили согласно «Единым ветеринарным (ветеринарно-санитарным) требованиям» [7] и ГОСТ 2116-2000 [8].

Биотестирование исследуемых образцов осуществляли с использованием реснитчатой инфузории *Tetrahymena pyriformis*. Показатель ОБЦ определяли отношением числа клеток инфузорий, выросших на опытном продукте, к количеству инфузорий, выросших на контрольном продукте, выраженным в процентах [9].

Комбинированная технология кормовой добавки из морских звезд может осуществляться в разной последовательности основных этапов технологического процесса: первый этап – экстрагирование и второй – ферментирование, или наоборот.

Ранее установлено, что ферментативную обработку морских звезд целесообразно проводить, варьируя значения в исследованных диапазонах: концентрация ферментного препарата – 0,4–1 %; продолжительность – 2–4 ч. Неизменными показателями остаются: температура – 55 °С; pH – 6,0, гидромодуль – 1 [4].

Процесс экстракции рекомендуется проводить этанолом при соотношении сырье : этанол 1 : 1,5 при комнатной температуре в течение 40–60 мин при периодическом перемешивании [10].

С целью определения рациональной очередности при сочетании двух способов обработки проводили исследования двух образцов: образец 1, полученный путем ферментирования с последующим экстрагированием; образец 2 – путем экстрагирования с последующим ферментированием. По окончании технологического процесса определялся выход готовой продукции, при этом рациональным считали способ с наиболее высоким значением этого показателя (табл. 1).

Таблица 1

Выход продуктов, % (в пересчете на 10%-ю влажность)

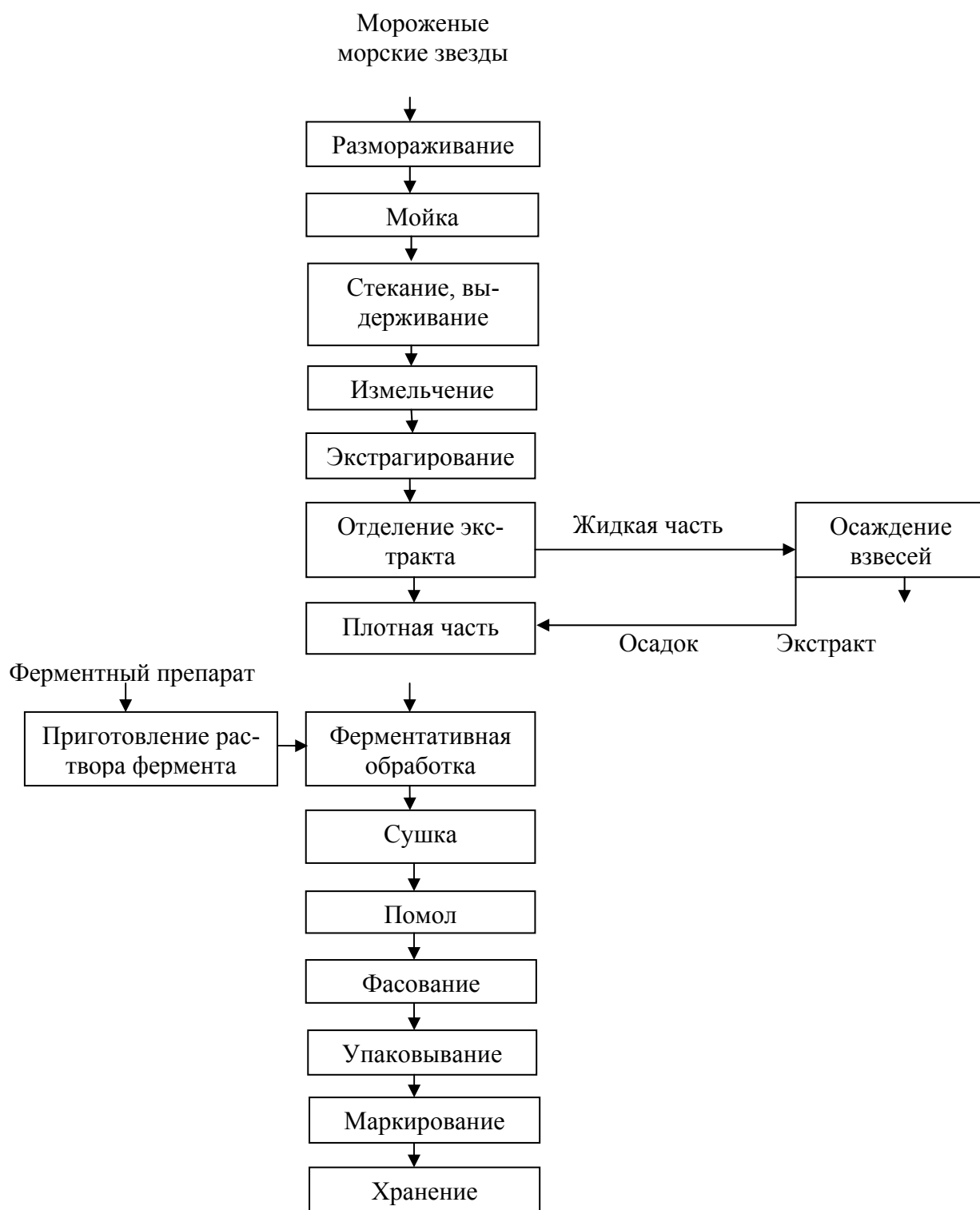
Table 1

The product yield, % (based on 10% moisture)

Образец	Плотная часть	Осадок	Экстракт
1	11,7	16,0	8,3
2	25,7	3,2	2,0

В процессе ферментирования и последующей экстракции (образец 1) значительная часть образующихся растворимых веществ переходит в экстракт (8,3 %), что приводит к существенным потерям ценных белковых и минеральных веществ. Поэтому для исключения потерь первым этапом комбинированной технологии кормовой добавки из морских звезд целесообразно проводить экстрагирование, далее отделить плотную часть и осадок от экстракта, удалить остатки экстрагента нагреванием до температуры 50–55 °С и затем ферментировать полученный полуфабрикат.

На основании результатов исследований предлагается комбинированная технологическая схема производства кормовой добавки из морских звезд, представленная на рисунке.



Комбинированная технологическая схема производства кормовой добавки из морских звезд
The combined technological scheme of feed additives production from the sea stars

Исследования по оценке качества показали, что готовая кормовая добавка из морских звезд, полученная по комбинированной технологии, по органолептическим и физико-химическим показателям соответствует требованиям, указанным в табл. 2.

Таблица 2

**Органолептические и физико-химические показатели кормовой добавки
из морских звезд**

Table 2

**Organoleptic and physico-chemical characteristics of the feed additive
from the sea stars**

Показатель	Характеристика и значение кормовой добавки	Норма по ГОСТ 2116-200
Внешний вид	Порошок без плотных комков, без плесени	Без плотных (не разрушаемых при надавливании) комков, без плесени. Допускается мелковолокнистость
Цвет	Коричневый	От коричневого до темно-коричневого
Запах	Приятный запах морепродуктов	Свойственный данному виду продукции, без постороннего запаха
Массовая доля влаги, %	5,22	Не более 10
Массовая доля сырого протеина, %	27,41	Не менее 25
Массовая доля жира, %	2,22	Не более 14
Массовая доля фосфора, %	0,39	Не более 5
Массовая доля кальция, %	12,10	Не более 15
Массовая доля минеральных веществ, %	35,90	-

Результаты по определению содержания макро- и микроэлементов приведены в табл. 3.

Таблица 3

Содержание макро- и микроэлементов, мг/кг

Table 3

Contents of macro – and micronutrients, mg/kg

Показатель	Na	K	Mg	Mn	Fe	Sn	Se
Значение	3024,6	1234,1	89630,5	48,2	349,3	0,0024	0,00024

Данные, представленные в табл. 3, свидетельствуют о содержании в кормовой добавке достаточно большого количества важных для организма животного макро- и микроэлементов, которые участвуют в процессах обмена веществ и построения тканей.

Результаты исследований безопасности (табл. 4) показали, что микробиологические показатели, содержание токсичных элементов в кормовой добавке из морских звезд отвечают ветеринарно-санитарным требованиям согласно «Единым ветеринарным (ветеринарно-санитарным) требованиям», предъявляемым к товарам, подлежащим ветеринарному контролю.

Таблица 4

Показатели безопасности кормовой добавки из морских звезд

Table 4

Indicators of feed additive safety from the sea stars

Показатель	Допустимый уровень по «Единым ветеринарным требованиям»	Фактическое значение
Общая бактериальная обсемененность, КОЕ/г, не более	$5 \cdot 10^5$	$7 \cdot 10^2$
Патогенная микрофлора,	Не допускается	Не обнаружено
в том числе сальмонелла в 25 г	Не допускаются	Не обнаружено
Энтеропатогенные эшерихии в 25 г	Не допускаются	Не обнаружено
Ботулинический токсин	Не допускаются	Не обнаружено
Перекиси	Не более 0,1 % по йоду	Не обнаружено
Алдрин	Не допускается	Не обнаружено
ГЦХГ (сумма изомеров)	Не более 0,2 мг/кг	Не обнаружено
ДДТ (сумма метаболитов)	Не более 0,4 мг/кг	Не обнаружено
Гептохлор	Не допускается	Не обнаружено
Свинец	Не более 5,0 мг/кг	0,396
Кадмий	Не более 1 мг/кг	0,396
Ртуть	Не более 0,5 мг/кг	Не обнаружено
Мышьяк	Не более 2,0 мг/кг	0,604
Цинк	Не более 100,0 мг/кг	47,6

Относительная биологическая ценность кормовой добавки, полученной из морских звезд по комбинированной технологии, увеличивается до 75–104 % по сравнению с сырьем (34 %) благодаря лучшей доступности питательных веществ для усвоения организмом и отсутствию в ней токсичных элементов.

Таким образом, на основании экспериментальных исследований по обоснованию технологических параметров ферментативного и экстракционного способов получения кормовой добавки из морских звезд, с учетом особенностей данного вида сырья и требований по безопасности готового кормового продукта разработана комбинированная технология их переработки. Она учитывает достоинства обоих способов обработки морских звезд и исключает их недостатки.

Экстракция полуфабриката этанолом целесообразна для детоксикации продукта в те периоды, когда морские звезды токсичны, и для удаления части липидов, содержание которых строго регламентируется для кормовых продуктов, а также удаления с экстрактом значительной доли хлористого натрия, тем самым обеспечивается безопасность готового кормового продукта.

Ферментативный гидролиз повышает доступность питательных веществ для организма животных, тем самым обеспечивая высокую биологическую ценность продукта.

Список литературы

1. Богданов, В.Д. Технохимическая характеристика морских звезд как объекта промышленной переработки / В.Д. Богданов, С.Н. Максимова, Н.Г. Тунгусов, Е.В. Шадрина // Изв. ТИНРО. – 2015. – Т. 181. – С. 241–251.
2. Шадрина, Е.В. Обоснование технологии белково-минеральной кормовой добавки из морских звезд, основанной на способе прямой сушки / Е.В. Шадрина, С.Н. Максимова, Е.М. Панчишина // Науч. тр. Дальрыбвтуза. – Владивосток, Дальрыбвтуз, 2015. – Т. 36. – С. 108–112.
3. Заявка 2016104550/13(007189) Российская Федерация. Способ получения кормовой добавки из морских звезд / Богданов В.Д., Тунгусов Н.Г., Максимова С.Н., Шадрина Е.В., Панчишина Е.М., Вакула М.М.
4. Максимова, С.Н. Применение ферментативного гидролиза в технологии кормовой добавки из морских звезд / С.Н. Максимова, В.Д. Богданов, Е.В. Шадрина, Е.М. Панчишина // Изв. КГТУ. – Калининград, 2016. – № 41. – С. 100–110.
5. ГОСТ 7636-85. Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа. – М.: Изд-во стандартов, 1988. – 133 с.
6. Bligh, E.G. A rapid method of total lipid extraction / E.G. Bligh, W.J. Dayer // Canad. J. Biochem. Physiol. – 1959. – № 37. – Р. 911–917.
7. Единые ветеринарные (ветеринарно-санитарные) требования, предъявляемые к товарам, подлежащим ветеринарному контролю (надзору), утвержденные решением комиссии таможенного союза от 18 июня 2010 года. – № 317. – 61 с.
8. ГОСТ 2116-2000. Мука кормовая из рыбы, морских млекопитающих, ракообразных и беспозвоночных. Технические условия. – Минск, 2003. – 7 с.
9. Шульгин, Ю.П. Ускоренная биотис оценка качества и безопасности сырья и продуктов из водных биоресурсов / Ю.П. Шульгин, Л.В. Шульгина, В.А. Петров. – Владивосток: Изд-во ТГЭУ, 2006. – 124 с.
10. Пат. 2618345 Российская Федерация. Способ получения кормовой добавки из морских звезд / Богданов В.Д., Тунгусов Н.Г., Максимова С.Н., Шадрина Е.В., Панчишина Е.М., Вакула М.М. – Заявл. 10.02.2016; опубл. 03.05.2017, Бюл. № 13.

Сведения об авторах: Богданов Валерий Дмитриевич, доктор технических наук, профессор, e-mail: bogdanovvd@dgtru.ru;

Максимова Светлана Николаевна, доктор технических наук, профессор, e-mail: maxsvet61@mail.ru;

Тунгусов Николай Гаврилович, кандидат технических наук, доцент, e-mail: tungusovn@mail.ru;

Шадрина Екатерина Васильевна, аспирант, e-mail: katyashadrina83@mail.ru;

Панчишина Екатерина Мироновна, кандидат технических наук, доцент, e-mail: ekaterina.pan.8@mail.ru.

УДК 639.211.597.1.05

Р.В. Есипенко, Н.В. Довженко, Н.Н. Ковалев

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОЛИЗАТОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ

В ферментолизатах двустворчатых моллюсков определено содержание растворимого белка, свободных аминокислот и пептидов. Определено влияние способов внесения молочной сыворотки на состав ферментолизатов. Рассчитано содержание редокс-аминокислот в ферментолизатах моллюсков. Определена антиоксидантная активность ферментолизатов. Показано, что более высокой антиоксидантной активностью обладают ферментолизаты моллюсков, обогащенных молочной сывороткой.

Ключевые слова: моллюски, ферментолизаты, свободные аминокислоты, пептиды, антиоксидантная активность, молочная сыворотка.

R.V. Esipenko, N.V. Dovjenko, N.N. Kovalev

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME MOLLUSCS SPECIES FERMENTOLISATES

Content of soluble protein, free amino acids and peptides of bivalves fermentolysates was determined. The influence of introducing whey methods on fermentolysates composition was determined. The content of redox-amino acids of mollusks fermentolysates is calculated. The antioxidant activity of fermentolysates has been determined. It has been shown that fermentolysates of mollusks enriched with milk whey possess higher antioxidant activity.

Key words: mollusks, fermentolysates, free amino acids, peptides, antioxidant activity, milk whey.

Введение

В настоящее время доказано, что белки, а также другие биологически активные соединения могут быть использованы как корректоры физиологического состояния организма. Антиоксидантные пептиды постепенно принимаются в качестве пищевых ингредиентов, дополненных функциональными продуктами питания и нутрицевтиками, для позитивного регулирования окислительного стресса в организме человека.

Морепродукты являются отличными источниками высококачественных белков, которые при переваривании обеспечивают поступление в организм биоактивных пептидов с выраженной антиоксидантной, антигипертензивной, кардиозащитной активностью [1, 2, 3].

Известен широкий спектр природных и синтетических экзогенных антиоксидантов, поступающих в организм с пищей. При этом природные антиоксиданты обладают рядом преимуществ по сравнению с синтетическими, включая отсутствие побочных и кумулятивных эффектов, а также более низкую токсичность [4].

Основными классами природных антиоксидантов являются каротиноиды, тиолы, фенольные соединения и пептиды. В литературе описаны последовательности более 100 антиоксидантных пептидов, выделенных из различных источников, а также полученных при конверсии белков с использованием ферментов и / или микроорганизмов [5, 6].

Продуктами ферментативной деструкции белков являются пептиды и аминокислоты. Из литературных источников известно, что свободные аминокислоты являются слабыми

антиоксидантами, но комплексы аминокислот и дипептидов, включая гистидинсодержащие дипептиды, способны дополнять и усиливать друг друга, составляя комплекс антиоксидантов [7,8]. Однако объекты с высоким содержанием белков соединительной ткани не соответствуют по аминокислотному составу по шкале ФАО / ВОЗ [9, 10].

Двустворчатые моллюски являются пищевым сырьём с невысоким содержанием свободных аминокислот, поэтому их использование в технологии белковых концентратов или пищевых добавок без дополнительного обогащения состава представляется нерациональным. Одним из способов обогащения белкового и аминокислотного состава является внесение молочной сыворотки. Гидролизаты сывороточных белков используются при производстве кондитерской, хлебобулочной, мясной продукции, входят в состав напитков и заменителей женского молока благодаря высокой пищевой ценности, отсутствию горького вкуса и низким антигенным свойствам [11]. Кроме того, ферментоллизаты белков молочной сыворотки характеризуются иммуномодулирующими, цитотоксическими, антиоксидантными и пребиотическими свойствами [12].

Задачей настоящего исследования являлось определение состава и антиоксидантной активности ферментоллизатов некоторых видов двустворчатых моллюсков с использованием молочной сыворотки.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись мягкие ткани корбикулы и мерценарии, выловленных в зал. Петра Великого (Японское море) в 2016 г.

В качестве ферментных препаратов для проведения ферментоллиза использовали мегатерин (170 Е/г), выделенный из клеточных культур микроорганизма *Bacillus megaterium* (ТУ № 00479942-002-94), протамекс (670 Е/г) – из *Bacillus protease* (Denmark), (Гигиеническое заключение № 77.99.9.916.П.15411.10.00).

Определение содержания водорастворимого белка проводили по методу Лоури [13].

Содержание пептидов определяли по методу Лоури после осаждения высокомолекулярных белков ТХУ [14].

Аминокислотный состав исследованных образцов проводили на аминокислотном анализаторе L-8800 (Hitachi, Япония).

Оценка эффективности антиоксидантов проводилась по их способности подавлять реакцию окисления ABTS⁺ пероксильными и алкоксильными радикалами, образующимися при термическом (37 °С) разложении АВАР (2, 2'-азобис (2-аминопропан) гидрохлорид) [15].

Результаты и обсуждение

Обогащение продуктов белками молочной сыворотки возможно двумя способами: внесение сыворотки в ферментоллизат моллюсков и ферментоллиз тканей моллюсков в среде молочной сыворотки (совместный ферментоллиз).

Ранее проведенными исследованиями установлено, что оптимальное время ферментоллиза мягких тканей мерценарии и корбикулы под действием протамекса и мегатерина составляет 2,5–3 ч при активности ферментов 2,5–3 П/Е, соотношение водного гомогената тканей моллюска и молочной сыворотки составляло 1 : 1 [16, 17].

С целью оценки влияния молочной сыворотки на состав продуктов в сублимированных ферментоллизатах моллюсков был определен состав белковых компонентов (табл. 1).

Таблица 1

**Содержание водорастворимого белка, пептидов и свободных аминокислот
в ферментолизатах моллюсков, мг/г**

Table 1

**Content of water-soluble protein, peptides and free amino acids in mollusc
fermentolysates, mg / g**

Образец*	Фермент	Белок	Пептиды	Аминокислоты	Сумма редокс-аминокислот
Корбикула					
1	Протамекс	420±16,0	10,3±0,3	49,2	1,8
2		540±23,0	12,0±0,5	59,5	2,1
3		580±27,0	15,4±0,7	79,2	4,3
1	Мегатерин	440±16,0	12,1±0,5	43,3	1,2
2		530±22,0	15,0±0,7	57,6	2,5
3		570±26,0	27,0±16,0	75,0	3,7
Мерценария					
1	Протамекс	270±8,0	9,0±0,4	107,1	7,5
2		300±15,0	15,0±0,75	111,1	8,6
3		320±16,0	20,0±1,0	146,6	11,2
1	Мегатерин	270±8,1	9,0±0,4	100,4	6,6
2		310±15,5	14,0±0,7	106,7	5,8
3		300±15,0	19,0±0,95	138,4	8,9

Примечание. 1 – ферментолизат тканей, 2 – ферментолизат + сыворотка, 3 – совместный ферментоллиз.

Проведенные исследования показали, что обогащение ферментолизата мягких тканей моллюсков молочной сывороткой повышает концентрацию растворимого белка на 10–30 % при использовании протамекса и на 15–20 % – при использовании мегатерина. Ферментоллиз мягких моллюсков в среде молочной сыворотки способствовал повышению концентрации растворимого белка в продуктах на 19–38 % в случае протамекса и на 12–30 % в случае использования мегатерина.

Сравнение состава образцов 2 и 3 позволяет оценить степень биоконверсии белков молочной сыворотки. Как видно из данных табл. 1, ферментоллиз тканей моллюсков в молочной сыворотке под действием протамекса способствовал увеличению концентрации растворимого белка в образцах на 6,5–7,0 %. В то же время под действием мегатерина, только в случае использования мягких тканей корбикулы, количество растворимого белка повышалось на 7,5 %. Ферментоллиз мягких тканей мерценарии в молочной сыворотке не оказывал влияния на содержание белка в продукте.

Как известно, продуктами протеолиза белков являются пептиды и аминокислоты. Проведенное исследование показало, что содержание пептидов в сублимированных ферментолизатах моллюсков составляло 9–12 мг/г. Увеличение содержания пептидов в продуктах совместного ферментоллиза зависело от использованного ферментного препарата и вида моллюска. Так, использование мегатерина увеличивало содержание пептидов на 111–123 % в случае использования мягких тканей мерценарии и корбикулы соответствен-

но. При использовании протамекса аналогичный результат был получен при использовании мягких тканей мерценарии, в то время как повышение содержания пептидов при использовании мягких тканей корбикулы составило только около 50 %.

Пищевая и биологическая ценность продуктов во многом определяется количественным содержанием свободных аминокислот. Определение сора свободных аминокислот показало, что их содержание в ферментолизатах корбикулы в два раза меньше, чем в ферментолизатах мерценарии. Накопление свободных аминокислот в продуктах, полученных при совместном ферментоллизе, зависело от вида используемого моллюска. Так, ферментоллиз тканей мерценарии в среде молочной сыворотки под действием двух исследованных ферментных препаратов увеличивал содержание свободных аминокислот на 37–38 %. В то же время при аналогичных условиях ферментоллиза мягких тканей корбикулы повышение содержания свободных аминокислот составило 61–73 %.

Проведенное определение состава ферментоллизатов мягких тканей моллюсков свидетельствует о различной атакуемости белков сырья исследованными ферментными препаратами и, как следствие, различном количественном составе продуктов протеолиза.

Из литературных источников известно, что наиболее физиологически активными являются пептиды с низкой молекулярной массой, за счет содержания остатков редокс-активных аминокислот (Tyr, Trp, Met, Cys, His) [18].

Проведено исследование по определению антиоксидантной активности ферментоллизатов моллюсков по отношению к ABTS–иону.

Результаты проведенного исследования представлены в табл. 2.

Таблица 2

Антиоксидантная активность продуктов из двустворчатых моллюсков с использованием молочной сыворотки, мкмоль/кг сухого веса

Table 2

Antioxidant activity of bivalve mollusc fermentolysates obtained using whey, $\mu\text{mol} / \text{kg}$ dry weight

Образец	Фермент	Корбикула	Мерценария
1	Протамекс	8,7 $\pm$ 0,4	14,3 $\pm$ 0,5
2		9,7 $\pm$ 0,3	18,3 $\pm$ 0,6
3		6,4 $\pm$ 0,2	16,6 $\pm$ 0,5
1	Мегатерин	10,4 $\pm$ 0,4	10,7 $\pm$ 0,4
2		10,6 $\pm$ 0,4	21,5 $\pm$ 1,1
3		8,3 $\pm$ 0,3	13,7 $\pm$ 0,4

Примечание. Нумерация образцов, как в табл. 1.

Во-первых, следует отметить, что ферментоллизаты моллюсков, полученные с использованием двух ферментов, характеризуются различным уровнем антиоксидантной активности (АОА). Наибольшую АОА проявлял ферментоллизат из мягких тканей мерценарии (14,3 мкмоль/кг), полученный с использованием протамекса.

Во-вторых, внесение молочной сыворотки в ферментоллизаты моллюсков сопровождалось увеличением антиокислительной способности. Следует отметить, что наибольшее увеличение антиокислительной активности при обогащении продуктов отмечено для мерценарии: внесение молочной сыворотки в ферментоллизат, полученный с использованием

протамекса – увеличивало его антиокислительные свойства на 4,0 мкмоль/кг, а при использовании мегатерина – на 10,8 мкмоль/кг.

Проведение совместного ферментализа мягких тканей моллюсков и молочной сыворотки приводило к снижению АОА в продуктах по сравнению с продуктами, обогащенными молочной сывороткой. Следует отметить, что АОА продуктов совместного ферментализа практически во всех случаях оказалась ниже, чем у продуктов, полученных при ферментализе мягких тканей моллюсков.

Исключением является продукт, полученный при ферментализе мягких тканей мерценарии и молочной сыворотки. В данном случае совместный ферментализ не оказывал влияния на антиоксидантную активность продукта.

Следует отметить, что антиоксидантная активность ферментализатов не коррелировала с содержанием свободных и редокс-аминокислот (см. табл. 1). По-видимому, антиоксидантные свойства полученных ферментализатов обуславливаются сочетанным действием свободных аминокислот и пептидов. Снижение антиоксидантной активности в образцах, полученных методом совместного ферментализа, косвенно указывает на дозозависимый эффект действия, что требует дополнительного изучения.

Таким образом, в результате проведенного исследования следует сделать заключение, что обогащение ферментализатов моллюсков увеличивает количественное содержание в них водорастворимого белка, пептидов и свободных аминокислот, что оказывает влияние на антиоксидантную емкость продуктов. Наибольшей антиоксидантной активностью характеризуются продукты ферментализа мерценарии, обогащенные молочной сывороткой.

Список литературы

1. Jensen, I.J. Preclinical and clinical studies on antioxidative, antihypertensive and cardioprotective effect of marine proteins and peptides / I.J. Jensen, H.K. Mæhre // *Mar. Drugs*. – 2016. – Vol. 14. – P. 128–136.
2. Dai-Hung Ngo, Se-Kwon Kim Marine Bioactive Peptides as Potential Antioxidants *Curr Protein Pept Sci*. – 2013. – № 14. – P. 189–198.
3. Ribang Wu, Cuiling Wu, Dan Liu, Xinghao Yang, Jiafeng Huang, Jiang Zhang, Binqiang Liao, Hailun He, Hao Li. Overview of Antioxidant Peptides Derived From Marine Resources: The Sources, Characteristic, Purification, and Evaluation Methods // *Appl Biochem Biotechnol*. – 2015. – Vol. 176 (7). – P. 1815–1833.
4. Federico Ruiz-Ruiz, Elena I Mancera-Andrade, Hafiz M N Iqbal. Marine-Derived Bioactive Peptides for Biomedical Sectors: A Review // *Protein Pept Lett*. – 2017. – № 24 (2). – P.109–117.
5. Dziuba D., Identification of lactobacillus strains at the species level using ftir spectroscopy and artificial neural networks // *Pol. J. Food Nutr. Sci*. – 2007. – Vol. 57, № 3. – P. 301–306.
6. Leo M.L., Toldra F. Food analysis // CRS Press. – 2015. – 686 p.
7. Давидович, В.В. Аминокислоты двустворчатых моллюсков: биологическая роль и применение в качестве БАД / В.В. Давидович, Т.Н. Пивненко // *Изв. ТИНРО*. – 2001. – Т. 129. – С. 146–154.
8. Давидович, В.В. Содержание свободных аминокислот и гистидинсодержащих дипептидов в моллюсках – перспективных источниках получения БАД / В.В. Давидович, Т.Н. Пивненко, Н.Б. Аюшин, А.Л. Шутикова // *ТИНРО-Центр. НИИЭМ СО РАМН*. – Владивосток, 2006. – Т. 147. – С. 331–337.
9. Битютская, О. Использование моллюска в технологии диетических продуктов / О. Битютская, В. Любчик, Т. Овсянникова // *Товари і ринки*. – 2012. – № 2. – С. 111–119.

10. Борисова, Г.В. Выбор ферментных препаратов с целью получения гидролизатов молочной сыворотки с низкой аллергенностью / Г.В. Борисова, М.В. Новосёлова, О.Н. Бондарчук, Ю.С. Малова // *Фундаментальные исследования. Сельскохозяйственные науки.* – 2012. – № 11. – С. 1164–1167.
11. Курбанова, М.Г. Белковые гидролизаты с биологически активными пептидами / М.Г. Курбанова, И.С. Разумникова, А.Ю. Просеков // *Молочная пром-сть.* – 2010. – № 10. – С. 73–76.
12. Milenteva I., Dyshlyuk L., Prosekov A., Babich O., Shishin M. Deriving biologically active peptides and study of their qualities // *Science Evolution.* – 2016. – Vol. 1, № 2. – P. 20–33.
13. Lowry O., Rosenbrough N., Parr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–276.
14. Гаврилин, М.В. Выбор оптимальных условий получения гидролизатов молочно-кислых бактерий термокислотным способом / М.В. Гаврилин, Г.В. Сенчукова, С.П. Сенченко, В.А. Самойлов, Н.А. Гостищева // *Химико-фармацевтический журн.* – 2007, – Т. 41. – № 2. – С. 54–56.
15. Bartosz G., Janaszewska A., Ertel D., Bartosz M. Simple determination of peroxide radical-trapping capacity // *Biochem. Mol. Biol. Int.* – 1998. – Vol. 46. – P. 519–528.
16. Ковалев, Н.Н. Обоснование биотехнологии мерценарии Симпсона / Н.Н. Ковалев, Р.В. Есипенко, Д.В. Порваткин // *Науч. тр. Дальрыбвтуза.* – Владивосток: Дальрыбвтуз, 2015, – Т. 35. – С. 131–138.
17. Есипенко, Р.В. Сравнительная характеристика состава и свойств ферментализатов корбикулы и мидии, полученных с использованием молочной сыворотки / Р.В. Есипенко, Н.Н. Ковалев // *Актуальные проблемы освоения биологических ресурсов Мирового океана: материалы III Междунар. науч.-практ. конф.* – Владивосток: Дальрыбвтуз, 2014. – Ч. 2. – С. 50–53.
18. Самохина, Л.С. Противоязвенное действие лактоферрина и его гидролизатов / Л.С. Самохина, Г.С. Комолова, И.И. Ионова, Г.В. Семенов // *Хранение и переработка сельхозсырья.* – 2012. – № 9. – С. 21–23.

Сведения об авторах: Есипенко Роман Владимирович, старший преподаватель, e-mail: azt@bk.ru;

Ковалев Николай Николаевич, доктор биологических наук, профессор, проректор по научной и инновационной деятельности, e-mail: kovalevnn61@yandex.ru;

Довженко Надежда Владимировна, доцент, e-mail: nadezhda@poi.dvo.ru.

УДК 664.951.7:639.4

Е.В. Михеев, Ю.М. Позднякова, Н.Н. Ковалев

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИДИИ ГРЕЯ

Исследована сезонная динамика фракционного состава белков мягких тканей мидии. Установлена высокая вариабельность содержания водорастворимых белков в различные сезоны. Показана разнонаправленная сезонная динамика фракционного состава белков мускула-замыкателя. Показано снижение концентрации белка в гемолимфе в летне-осенний период. Установлено увеличение холинэстеразной активности гемолимфы мидии в осенний период до 2,6 Е/мг. Впервые определена активность кислых протеиназ в гемолимфе мидии Грея.

Ключевые слова: *Crenomytilus grayanus*, холинэстераза, белки, протеолитическая активность, протеиназы, сезонная динамика.

E.V. Mikheev, Yu.M. Pozdnyakova., N.N. Kovalev

SEASONAL DYNAMICS OF SOME BIOCHEMYCAL PARAMETERS OF GRAY MUSSEL

Seasonal dynamics of the fractional composition of soft tissue proteins of mussels was studied. A high variability in the content of water-soluble proteins in different seasons has been established. The multidirectional seasonal dynamics of muscle fibers protein fractional composition was shown. The decrease hemolymph protein concentration in the summer-autumn period was shown. Increase of mussels hemolymph cholinesterase activity in autumn was ascertained up to 2,6 U / mg. Activity of acidic proteinases in the hemolymph of Gray mussel was determined for the first time.

Key words: *Crenomytilus grayanus*, cholinesterase, proteins, proteolytic activity, proteinases, seasonal dynamics.

Введение

Интенсивное развитие промышленности и городских структур вдоль побережий, а также огромный рост морских перевозок и других видов деятельности привело к отложению тысячи новых химических веществ и органических соединений, что ставит под угрозу существование организмов и экосистем. Обычные методы биомаркеров используются в экологических исследованиях для адекватной оценки экологического состояния здоровья, управления и устойчивости планирования прибрежных акваторий. В настоящем исследовании используется набор биохимических методов для характеристики биохимических показателей объектов мидии Грея бухты Северной.

Известно, что биохимические показатели характеризуются сезонной динамикой, которая в большей мере определяется физиологическим состоянием объекта и температурой среды его обитания. Так, накопление белков теплового шока в пищеварительной железе и жабрах мидий (*Mytilus galloprovincialis*) имеет четко выраженную сезонную динамику: максимальное накопление белка обнаружено в летний период. Значимая корреляция между содержанием белков теплового шока и температурой воды предполагает либо прямое влияние температуры на экспрессию белка, либо косвенное влияние, обусловленное наличием пищи и интенсивностью роста [1].

Проблема мониторинга загрязнения среды обитания и мест промыслов гидробионтов токсикантами и определение их остаточных количеств в продуктах переработки требует разработки современных индикаторных экспресс-методов оценки безопасности продукции рыболовства и аквакультуры. Особое значение эта задача приобретает вследствие широкого применения токсических соединений в быту, производстве и сельском хозяйстве.

Использование ферментных систем морских животных как индикаторов состояния среды удобно в тех случаях, когда определить содержание токсикантов в воде химическими методами затруднительно вследствие их низкой и непостоянной концентрации. Содержание же токсикантов в тканях морских животных стабильно и точнее отражает их среднюю концентрацию в воде.

Ферментные системы гидробионтов как биохимические маркеры дают адекватную информацию о нарушениях состояния гидробионтов в условиях загрязнения среды обитания. Использование ферментов (гидролазы, нуклеазы) обуславливаются возможностью оценки как комплексного действия поллютантов, так и индивидуальных химических агентов. Ферментативные тест-системы характеризуются высокой чувствительностью, точностью, возможностью проведения быстрого анализа и могут быть использованы на рыбообработывающих и перерабатывающих предприятиях.

Наиболее перспективными для разработки методов оценки загрязнения среды обитания являются гидролазы гидробионтов, отличающиеся высокой чувствительностью и специфичностью к действию пестицидов, токсичных металлов, фосфорорганических соединений и других токсикантов.

В связи с постоянным ужесточением требований к предельно допустимому содержанию токсикантов в среде необходимость в накоплении данных по биохимическому составу тканей и активности ферментов гидробионтов высока. При этом низкие концентрации токсикантов в среде можно определить лишь в том случае, если загрязнитель является не субстратом, а ингибитором или активатором соответствующего ферментативного процесса [2].

Двустворчатые моллюски, в частности мидия, являются объектами экологических исследований [3], так как способны накапливать в своих тканях поллютанты различной химической природы. Ферменты двустворчатых моллюсков используются как биоиндикатор загрязнения окружающей среды различными поллютантами, в том числе органическими соединениями [4].

Целью настоящего исследования являлось изучение сезонной динамики фракционного состава белков мышечных тканей и активности ферментов в гемолимфе мидии Грея в бухте Северной.

Объекты и методы исследований

Объектом исследования послужил двустворчатый моллюск – мидия Грея (*Crenomytilus grayanus*), отобранный в бухте Северной (зал. Славянка, Японское море) с мая 2015 г. по август 2016 г.

Источником фермента служили центрифугаты (1000 g) гемолимфы двустворчатых моллюсков. В качестве субстратов холинэстераз использовали тиохолиновые эфиры карбоновых кислот – ацетил-, пропионил- и бутирилтиохолин иодиды (АТХ, ПТХ, БТХ, Sigma, США).

Скорость холинэстеразного гидролиза трех тиохолиновых субстратов определяли калориметрическим методом Элмана [5].

Кинетические параметры ферментативного гидролиза определяли графически по методу Лайнуивера–Берка [6].

Содержание белка в тканях гидробионтов определяли по методу Лоури [7]. Для щелочерастворимых белков использовали в качестве растворителя 0,01 NNaOH, для солерастворимых – 7 % водный раствор NaCl.

Для определения протеолитической активности в гемолимфе мидии использовали 2 % раствор казеина (в растворимое состояние переводили нагреванием в течение 15 мин) в 0,05 М фосфатном буфере pH 8,0 или 2 % раствор гемоглобина в 0,2 М ацетатном буфере (pH 3,4) и в 0,05 М фосфатном (pH 6,0) [8].

Результаты и обсуждение

Для определения фракционного состава белков было проведено определение соле-, водо- и щелочерастворимых белков в мягких тканях мидии, выловленной в 2014–2015 гг. (рис. 1).

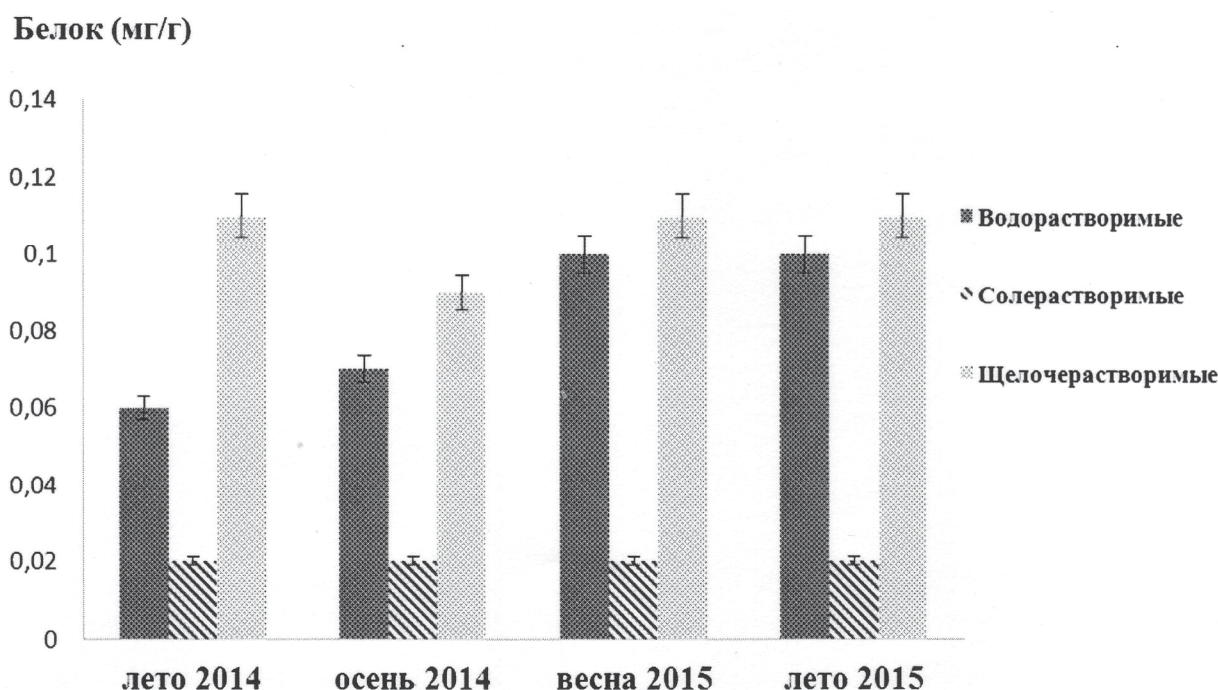


Рис. 1. Сезонная динамика показателей фракционного состава белков пучка мягких тканей мидии

Fig. 1. Seasonal dynamics mussel soft tissue proteins fractional composition

Во-первых, следует отметить, что в мягких тканях моллюска преобладают водо- и щелочерастворимые белки. Во-вторых, отмечаются межгодовые различия. Так, содержание водорастворимых белков в образцах 2014 г. было в 1,7 раза ниже, чем в летних образцах 2015 г. (рис. 1).

На примере образцов 2015 г. показано, что фракционный состав белков пучка мягких тканей образцов мидии весеннего и летнего сборов не выявил различий. В то же время анализ образцов мидии, собранных в 2014 г., показывает, что содержание щелочерастворимых белков снижается от летнего периода к осеннему.

Анализ фракционного состава белков мускула-замыкателя показал, что как и в мягких тканях целиком преобладают щелочерастворимые белки (рис. 2). Наименьшее содержание в мускуле отмечено для солерастворимых белков. Выявленная закономерность характерна для мышечных белков.

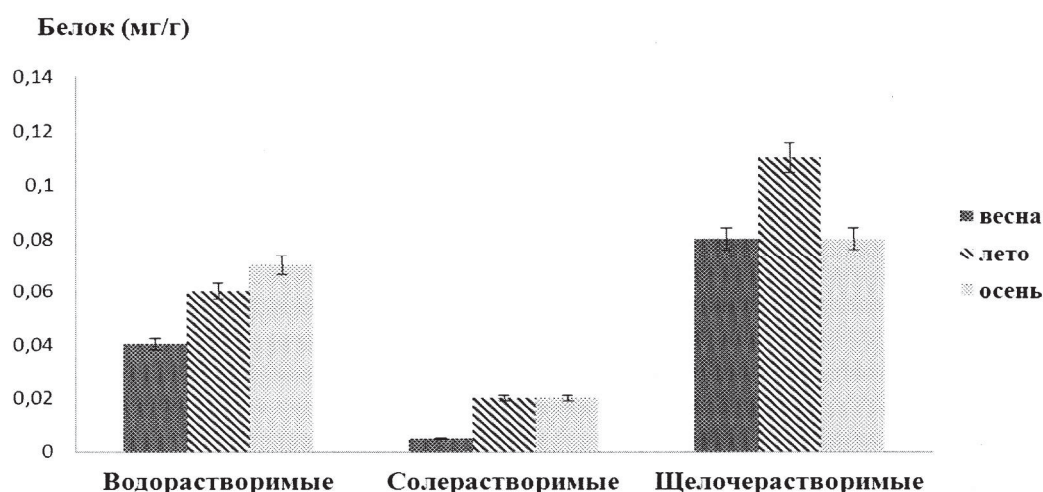


Рис. 2. Сезонная динамика показателей фракционного состава белков мускула-замыкателя мидии
Fig. 2. Seasonal dynamics of mussel closure muscle proteins fractional composition

Определение сезонной динамики показало, что в весенне-осенний период происходит накопление всех фракций белков в мышечной ткани мидии. Исключение составляют щелочерастворимые белки, содержание которых максимально в летний период.

Отличная сезонная зависимость фракционного состава выявлена для мантии мидии (рис. 3). В исследованной ткани содержание водо- и солерастворимых белков не различалось в течение трех исследованных сезонов. В то же время содержание в мантии мидии солерастворимых белков в летне-осенний период меньше, чем в весенний.

Следует отметить, что концентрации белков в мускуле-замыкателе и мантии мидии были практически равными во все сезоны. Исключение составляет более высокая концентрация солерастворимых белков в мантии мидии в весенний период по сравнению с содержанием данной фракции белков в мускуле-замыкателе.

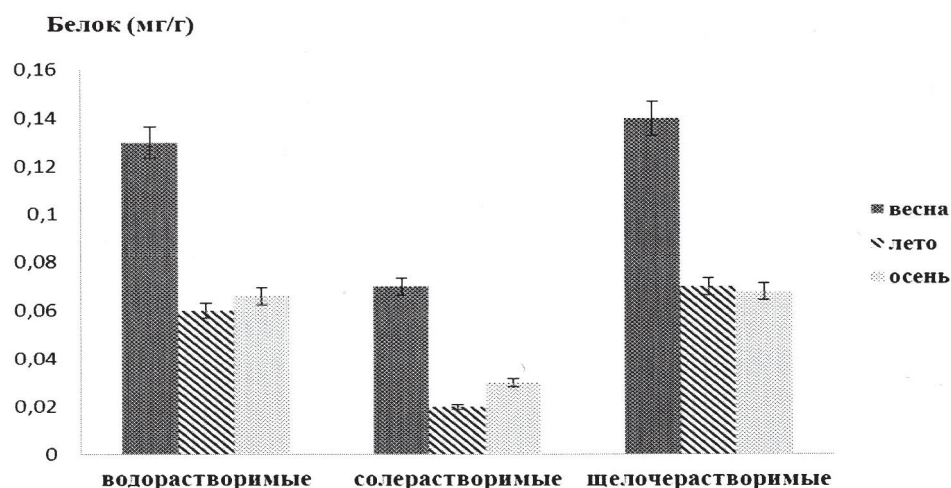


Рис. 3. Сезонная динамика показателей фракционного состава белков мантии мидии
Fig. 3. Seasonal dynamics of mussel mantle proteins fractional composition

Проводящая система двустворчатых моллюсков представлена гемолимфой. Гемолимфа – жидкость, циркулирующая в сосудах и межклеточных полостях многих беспозво-

ночных животных (членистоногие, онихофоры, моллюски) с незамкнутой системой кровообращения. Содержание белка в гемолимфе является диагностическим признаком физиологического состояния животного.

В ходе работ проведено исследование сезонных изменений концентрации белка в гемолимфе мидии (рис. 4).

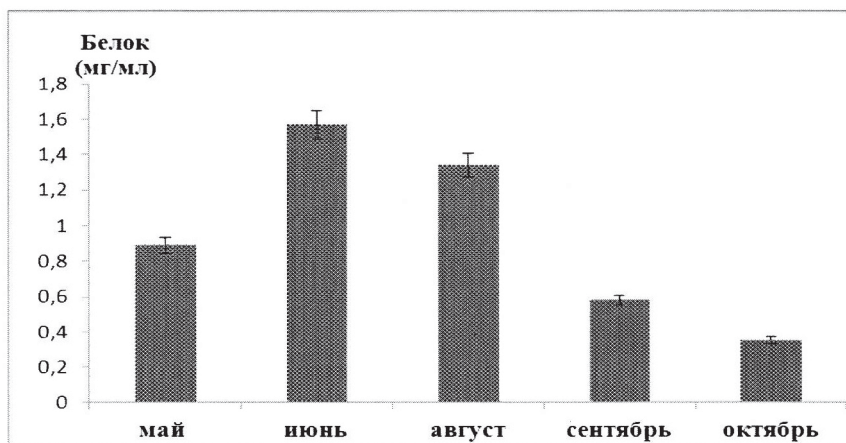


Рис. 4. Динамика сезонных изменений концентрации белка в гемолимфе мидии
Fig. 4. Dynamics of seasonal changes mussels' hemolymph protein concentration

Проведенные исследования показали, что с мая по июнь происходит рост концентрации белка в гемолимфе моллюска (рис. 4). Наибольшая концентрация белка в гемолимфе наблюдалась в летний период. При этом пик содержания белка приходится на июнь – 1,58 мг/мл. В дальнейшем концентрация белка в гемолимфе мидии снижается к осени, до значения в октябре 0,3 мг/мл. Такая сезонная динамика изменений концентрации белка в гемолимфе мидии коррелирует с жизненным циклом моллюска.

Проведенные ранее исследования указывают на присутствие во всех организмах различных типов холинэстераз (ХЭ), различающихся субстратной специфичностью [9], [10], [11]. Исходя из этого, позвоночные и беспозвоночные обладают различными типами ХЭ, которые должны быть полностью охарактеризованы перед их использованием в экологических исследованиях [12], [13].

В гемолимфе мидии была определена активность ХЭ и изучена динамика ее изменения в течение летне-осеннего сезона.

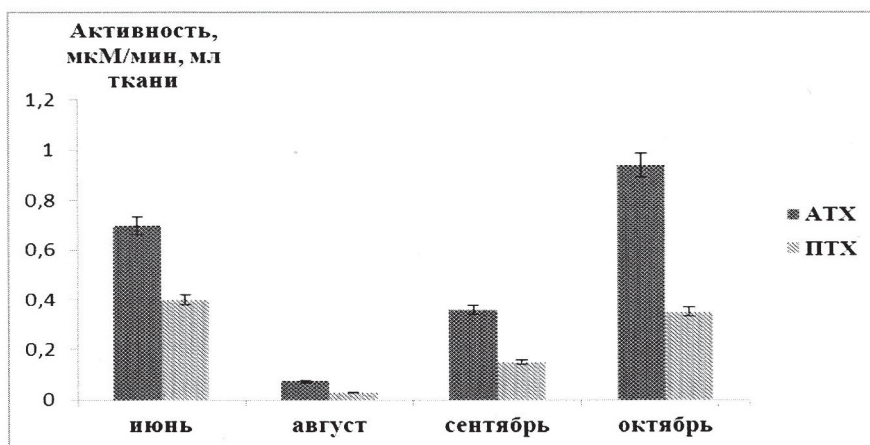


Рис. 5. Активность ХЭ гемолимфы мидии в различные сезоны 2015 г.
Fig. 5. Hemolymph mussel's cholinesterase activity in different seasons of 2015

Как видно из представленных на рис. 5 данных, ХЭ гемолимфы мидии катализировала гидролиз только двух исследованных субстратов. По этому признаку, а также соотношению скоростей гидролиза фермент можно отнести к типичным ацетилхолинэстеразам. Отмечается сезонная динамика изменений активности фермента. Так, скорость гидролиза субстратов снижалась в период от июня к августу и далее возрастала к октябрю. Величина активности фермента в 1 мл сыворотки в августе была на порядок ниже, чем в июне. Увеличение активности фермента в период от августа к октябрю происходило в 12,5 раза (субстрат АТХ). Столь значительные колебания активности ферментов гемолимфы мидии, очевидно, связаны биохимическими перестройками нерестового периода.

Определение величины удельной активности ХЭ на мг белка показало аналогичную тенденцию изменений определяемого параметра (рис. 6).

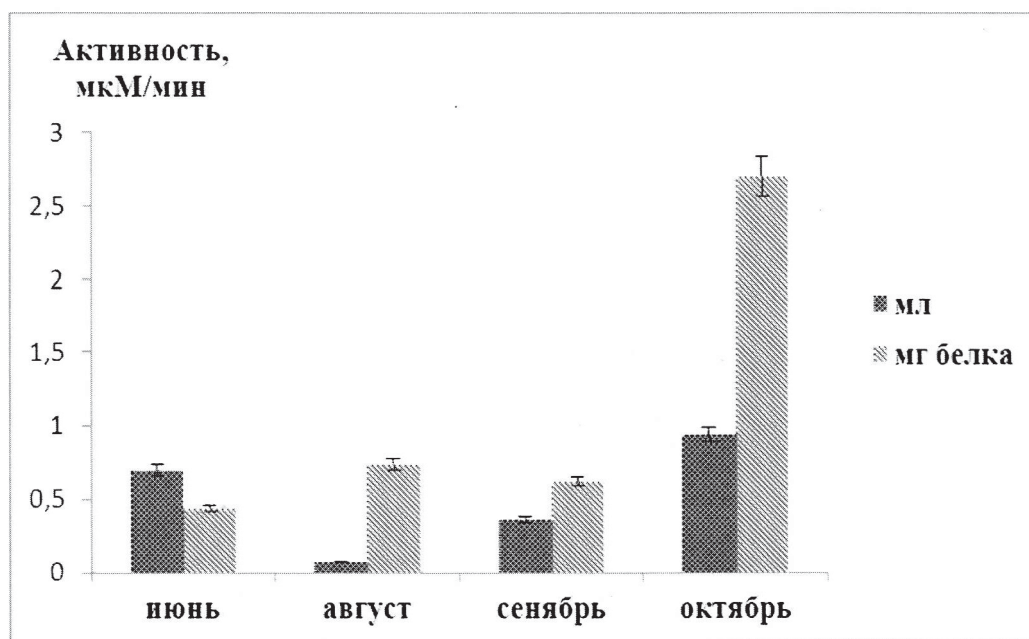


Рис. 6. Динамика изменений величины активности ХЭ в гемолимфе мидии различных сезонов вылова (субстрат АТХ)

Fig. 6. Dynamics mussel's hemolymph cholinesterase activity of changes in the value of different catch seasons (substrate acetylthiocholine)

Для ХЭ гемолимфы мидии в осенний период наблюдается увеличение величины удельной активности на мг белка (рис. 6). Такая закономерность объясняется сезонным снижением концентрации белка в гемолимфе (см. рис. 4).

В исследуемый период в гемолимфе мидии проведены исследования активности протеолитических ферментов. Полученные данные представлены в таблице.

Установлено, что протеолитическая активность в гемолимфе мидии обнаруживалась не во все сезоны вылова 2015 г. Так, в августе в гемолимфе мидии обнаружена активность нейтральных (0,002 Е/мг белка) и кислых протеиназ (0,004 мг/белка). Тогда как в сентябре выявлена активность только кислых протеаз (0,012 Е/мг белка), таблица.

В то же время активность кислых протеиназ в образцах 2016 г. обнаруживалась во все исследованные сезоны. Максимальная величина удельной активности кислых протеиназ была отмечена в гемолимфе мидии, выловленной в августе 2016 г. Также следует отметить, что в образце гемолимфы мидии, выловленной в апреле 2016 г., выявлена активность кислых, нейтральных и щелочных протеаз.

Активность протеаз в гемолимфе мидии
Proteases activity of mussel's hemolymph

Дата	Активность протеаз, Е/мл (Е/мг белка)		
	pH 8,0	pH 6,0	pH 3,4
2015 г.			
Май	0	0	0
Июнь	0	0	0
Июль	0	0	0
Август	0,003 (0,002)	0	0,005 (0,004)
Сентябрь	0	0	0,0069 (0,012)
Октябрь	0	0	0
2016 г.			
Апрель	0,031 (0,0044)	0,015 (0,025)	0,003 (0,005)
Май	0,0035 (0,002)	0	0
Июнь	0,022 (0,015)	0	0
Июль	0,005 (0,013)	0	0
Август	0,035 (0,07)	0	0

Выводы

Таким образом, проведенные исследования показали, что фракционный состав белков мягких тканей мидии не изменялся в весенне-осенний период. При этом отмечена высокая вариабельность концентрации водорастворимых белков в мягких тканях мидии.

Сезонная динамика фракционного состава мускула-замыкателя и мантии имеет разнонаправленный характер в рассматриваемый период: в мускуле-замыкателе происходит увеличение содержания белков всех фракций в весенне-осенний период, в то время как в мантии количественное содержание фракций белков в этот период снижается.

Выявлена сезонная динамика изменений концентрации белка в гемолимфе мидии: снижение показателя в летне-осенний период составляет 5,3 раза.

Определено, что активность холинэстеразы в гемолимфе мидии в летний период мало изменяется и составляет в среднем 0,5 Е/мг белка. В осенний период значение удельной активности увеличивается до 2,6 Е/мг белка.

Впервые в гемолимфе мидии обнаружена активность кислых протеиназ, закономерности сезонной динамики которых в данном исследовании установить не удалось.

Полученные данные по мониторингу различных биохимических параметров в тканях мидии Грея, выловленной в бухте Северной в 2014–2016 гг., позволяют сделать заключение о возможности использования активности холинэстеразы гемолимфы мидии Грея в качестве маркера состояния акватории в данном районе.

Список литературы

1. Minier C., Borghi V., Moore M.N., Porte C. Seasonal variation of mxr and stress proteins in the common mussel, *mytilus galloprovincialis* // *Aquatic Toxicology*. – 2000. – Vol. 50, № 3. – P. 167–176.
2. Евтюгин, Г.А. Биосенсоры для определения ингибиторов в окружающей среде / Г.А. Евтюгин, Г.К. Будников, Е.Б. Никольская // *Успехи химии*. – 1999. – Т. 68, № 12. – С. 1142–1167.
3. Ковалев, Н.Н. Холинэстеразная активность гемолимфы мидии *Grenomytilus Grayanus* (DUNKER, 1853) (BIVALVIA: MYTILIDAE), обитающей в импактных природных и антропогенных условиях / Н.Н. Ковалев, В.Я. Кавун, Э.Я. Костецкий, Е.В. Михеев, О.В. Подгурская // *Биол. моря*. – 2016. – Т. 42, № 1. – С. 41–47.
4. Лукьянова, О.Н. Молекулярные биомаркеры / О.Н. Лукьянова. – Владивосток: Изд-во: ДВГАУ, 2001. – 191 с.
5. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.Jr., Featherstone R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity // *Biochem. Pharmacol.* – 1961. – Vol. 7, № 1. – P. 88–95.
6. Корниш-Боуден, Э. Основы ферментативной кинетики: монография / Э. Корниш-Боуден. – М.: Мир, 1979. – 280 с.
7. Lowry O., Rosenbrough N., Parr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–276.
8. Каверзнева, Е.Д. Стандартный метод определения протеолитической активности для комплексных препаратов протеаз / Е.Д. Каверзнева // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 1971. – Т. 7, № 2. – С. 225–228.
9. Valbonesi P., Sartor G., Fabbri E. Characterization of cholinesterase activity in three bivalves inhabiting the North Adriatic sea and their possible use as sentinel organisms for biosurveillance programmes // *Sci. Environ.* – 2003. – Vol. 312. – P. 79–88.
10. Brown M., Davies I.M., Moffat C.F., Redshaw J., Craft J.A. Characterisation of cholinesterases and their tissue and subcellular distribution in mussel (*Mytilus edulis*) // *Mar. Environ. Res.* – 2004. – Vol. 5. – P. 155–169.
11. Tortelli V., Colares E.P., Robaldo R.B., Nery L., Pinho G., Bianchini A., Monserrat J.M. Importance of cholinesterase kinetic parameters in environmental monitoring using estuarine fish // *Chemosphere*. – 2006. – Vol. 65, № 4. – P. 560–566.
12. Domingues I., Agra A. R., Monaghan K., Soares A., Nogueira A. Cholinesterase and glutathione-S-transferase activities in freshwater invertebrates as biomarkers to assess pesticide contamination // *Environ. Toxicol.Chem.* – 2010. – Vol. 29, № 4. – P. 929–938.
13. Choi J.Y., Yu J.Y., Dong B., Ra K.K., Kyung T., Hong G. H., Shin, K.H. Acetylthiocholine (ATC) - Cleaving cholinesterase (ChE) activity as a potential biomarker of pesticide exposure in the Manila clam // *Ruditapes philippinarum*, of Korea *Mar. Environ. Res.* – 2011. – Vol. 71, № 3. – P. 162–168.

Сведения об авторах: Михеев Евгений Валерьевич, кандидат технических наук,
e-mail: eugene2279@mail.ru;

Позднякова Юлия Михайловна, кандидат технических наук,
e-mail: pozdnyakova.julia@yandex.ru;

Ковалев Николай Николаевич, доктор биологических наук,
e-mail: kovalevnn61@yandex.ru.

УДК 541.18.05

Т.Н. Пивненко, А.Е. Бунтуш

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЯ МАСЛЯНОГО ЭКСТРАКТА КАРОТИНОИДОВ ИЗ ТУНИКИ АСЦИДИИ ПУРПУРНОЙ

Показана значимость использования метода микрокапсулирования каротиноидов из туники асцидии пурпурной для создания функциональных пищевых продуктов. Рассмотрена способность полимерных оболочек микрокапсул, образованных из альгината натрия, хлорида кальция, хитозана и активированного угля, сохранять свою структуру и повышать устойчивость лабильных препаратов к низкой рН среды, температурным условиям. Показана возможность создания и стабилизации эмульсии жировых и водорастворимых компонентов с использованием различных эмульгаторов и ультразвуковой обработки.

Ключевые слова: каротиноиды, альгинат натрия, хитозан, микрокапсулирование, эмульгирование.

T.N. Pivnenko, A.E. Buntush

EXPERIMENTAL FOUNDATION OF MICROCAPSULATION OF OIL EXTRACT OF CAROTHINOIDS FROM TUNICS OF PURPLE ASCIDIAN

The importance of using the method of microencapsulation of carotenoids from the tunic of ascidia purpurea is shown to create functional food products. The ability of polymeric membranes of microcapsules, formed from sodium alginate, calcium chloride, chitosan and activated carbon, to retain its structure and increase the resistance of labile preparations to a low pH environment, temperature conditions is considered. The possibility of creation and stabilization of an emulsion of fat and water-soluble components with the use of various emulsifiers and ultrasonic treatment is shown.

Key words: carotenoids, sodium alginate, chitosan, microencapsulation, emulsification.

Введение

В настоящее время актуальным вопросом нутрициологии является создание функциональных пищевых продуктов (ФПП). Растущий интерес к нутриентной ценности продуктов основан на представлении о том, что регулярное употребление продуктов, содержащих ингредиенты, обладающие научно обоснованными и подтвержденными свойствами, снижают риск развития заболеваний, связанных с питанием, предотвращают или восполняют имеющийся в организме человека дефицит питательных веществ, повышают устойчивость организма к ряду распространенных заболеваний [1]. Однако не все функциональные компоненты сочетаются по своим органолептическим качествам с продуктами различного происхождения. Кроме того, лабильные биологически активные вещества могут претерпевать изменения в своей структуре при разных способах приготовления и хранения.

Инкапсулирование функциональных ингредиентов в настоящее время рассматривается как наиболее рациональный способ сохранения их активности и безопасной доставки в организм [1–2]. Микрокапсулирование позволяет включать активные компоненты в поры полимерной матрицы, мембрану или ядро капсулы, где они удерживаются силами физического взаимодействия. Микрокапсулы предотвращают разложение лабильных веществ под воздействием факторов окружающей среды, позволяют контролировать их высвобождение [2–5]. Производители, желающие позиционировать свою продукцию как функциональную,

в первую очередь обращаются к добавлению полиненасыщенных жирных кислот и витаминов (каротиноидов, витамина Е), что стало причиной широкого применения этих добавок в различных пищевых продуктах. Липофильные вещества в своем натуральном виде плохо сочетаются с компонентами продуктов, имеющих водную основу. Это связано и со специфическими органолептическими качествами, и с пониженной стабильностью при термообработке, присутствием кислорода и влиянием условий переваривания в желудочно-кишечном тракте.

Каротиноиды широко распространены в природе, в настоящее время известно более 600 соединений различных каротиноидов. К важнейшим свойствам каротиноидов относятся их А-провитаминная активность, способность защищать органы и ткани от УФ-излучения, антиоксидантный эффект, снижение риска развития некоторых видов рака и сердечно-сосудистых заболеваний, выполнение ряда функций в зрительном аппарате, поддержка репродуктивных процессов, а также возможность окрашивания пищевых продуктов [6]. Каротиноиды относятся к жирорастворимым соединениям, что создает ряд ограничений их применения в пищевой промышленности. Методы микрокапсулирования каротиноидов, в частности бета-каротина, в настоящее время разработаны, и полученные препараты используются в пищевой промышленности [7, 8]. Однако для каждого конкретного вида препаратов, подвергаемых инкапсулированию, необходим подбор условий процесса, исследование свойств, сочетаемость с пищевыми продуктами и сохранение биологической активности в различных условиях.

Ценным природным объектом, содержащим уникальный набор каротиноидов – ксантофиллов (фукоксантина, галоцинтиаксантина, астаксантина и др.), является асцидия пурпурная, обитающая в дальневосточных морях. На основе масляного экстракта из ее внешней оболочки – туники – разработана БАД к пище «Масляный экстракт из туники асцидии пурпурной», рекомендуемый для коррекции заболеваний сердечно-сосудистой системы, усиления иммунитета и антиоксидантной защиты [9]. Недостатками указанной БАД являются термолабильность и неустойчивость в присутствии кислорода, а также специфические органолептические свойства. Для стабилизации ксантофиллов и маскировки вкуса и запаха метод микрокапсулирования может быть весьма полезен.

В представленной работе предложено обоснование экстракционного способа получения микрокапсул, содержащих в качестве функционального компонента масляный экстракт из туники асцидии, содержащий каротиноиды для дальнейшего использования в составе функциональных пищевых продуктов.

Материалы и методы

В работе использовали альгинат натрия, хитозан из панциря краба, БАД к пище «Масляный экстракт из туники асцидии» производства ООО «ФармоушенЛаб», г. Партизанск; активированный уголь, ТВИН-80 (неионогенное ПАВ), разрешенный к применению в пищевой промышленности, соевый лецитин.

Плотность определяли волюмометрическим методом. Определение вязкости проводили на ротационном вискозиметре Fungilab SMART H в единицах динамической вязкости системы SI (Па·с или мПа·с).

Для получения микрокапсул использовали систему, состоящую из силиконового шланга, иглы от шприца диаметром 0,7 или 0,2 мм, подвешенной на штатив. В зависимости от состава эмульсионной системы капали смесь с высоты 20 см в 0,2 М раствор хлорида кальция либо самотеком, либо с помощью перистальтического насоса.

Для получения эмульсии использовали подсолнечное масло, дистиллированную воду и 4%-й раствор альгината натрия в различных соотношениях. Для стабилизации эмульсии использовали эмульгаторы: ТВИН-80 и соевый лецитин.

Результаты и их обсуждение. Поскольку процесс микрокапсулирования заключается в создании защитной оболочки вокруг жидкого ядра, содержащего БАВ, то важным этапом работы является подбор подходящего материала для оболочки. При микрокапсулировании жирорастворимых компонентов важно разработать методы получения стабильных, не расслаивающихся эмульсий, соединяющих в себе целевой компонент, водорастворимый полимер – основу для оболочки микрокапсулы, эмульгатор для стабилизации эмульсии в течение промежутка времени, достаточного для полного завершения процесса.

При выборе носителя для микрокапсулирования в рамках возможностей пищевого производства учитывают следующие требования: отсутствие токсичности, доступность, невысокая стоимость. В пищевой промышленности чаще всего для микрокапсулирования используют альгинат натрия, пектин, хитозан, желатин и др. [5]. Альгинат натрия – линейный гетерополисахарид из морских водорослей, образует вязкие растворы в концентрации 0,4–5 % в присутствии ионов кальция. Для иммобилизации функциональных ингредиентов широко используют обработку хлоридом кальция, в результате чего образуется поперечно сшитый альгинат кальция, нерастворимый в воде. Альгинатные микрокапсулы легко формируют оболочку, нетоксичны для организма, дешевы, обладают хорошими технологическими характеристиками (температура гелеобразования), легко высвобождают содержимое в кишечнике. Недостатками таких капсул являются неустойчивость в кислой среде, чувствительность к присутствию хелатирующих агентов – цитратов, фосфатов, лактатов, которые, взаимодействуя с ионами кальция, нарушают целостность оболочки микрокапсулы, а также способствуют образованию микропор и микротрещин в оболочке. Этот недостаток может быть устранен путем добавления в состав оболочки других полимеров, таких как хитозан. Известно, что выдерживание микрокапсул из альгината кальция в 0,5%-м растворе хитозана улучшает их стабильность благодаря образованию полиэлектролитного комплекса на поверхности и дальнейшего распространения реакции между макромолекулами полиэлектролитов вглубь слоя оболочки [10]. Хитозан – полисахарид животного происхождения, содержит аминогруппы и способен включаться в состав полимеров путем образования поперечной связи в присутствии анионов и полианионов. Чаще всего хитозан используют как внешнее покрытие оболочки микрокапсул из других полимеров.

Существует два основных способа микрокапсулирования БАВ: экструзия (он же капельный способ) и обращение фаз. Оба способа эффективны, но капельный более простой и доступный. Поэтому для дальнейших исследований нами был выбран именно он.

Была исследована способность к образованию микрокапсул на модельных опытах в водных растворах, далее в масляных эмульсиях в присутствии каротиноидов и без них. В качестве сшивающего реагента выступал хлорид кальция.

Для микрокапсулирования использовали методики, предложенные Кирстенем и Бьюком, описанные в работе Корочинского (2014) [11].

Первоначально исследовали возможность получения «пустых» микрокапсул без функциональных ингредиентов. Для этого 4%-й раствор альгината натрия, растворенный при температуре 50 °С, капали с высоты 20 см в 0,2 М раствор кальция хлорида. Раствор капал самотеком, для его перемещения по шлангам не потребовалось дополнительных усилий в виде насоса. Микрокапсулы оставляли «на созревание» в этом же растворе на 30 мин. Полученные микрокапсулы прозрачно-белого цвета имели правильную сферическую форму, были мягкими на ощупь, легко раздавливались пальцами. Средний диаметр капсул составил $1,1 \pm 0,2$ мм. После сушки на открытом воздухе капсулы уменьшились в размере (до 0,3 мм), стали коричневатого цвета, приобрели твердость и хрупкость. Их поверхность покрывалась микротрещинами.

Так как основным недостатком микрокапсул с оболочкой из альгината кальция является образование микротрещин, то для устранения этого недостатка были испытаны возможности укрепления оболочки при помощи активированного угля и хитозана.

В этом случае сначала получали микрокапсулы с оболочкой из альгината кальция, так как это описано выше. После «созревания» микрокапсулы отделяли от раствора и слегка подсушивали. Для укрепления оболочек микрокапсул хитозаном их выдерживали в течение часа в 0,4%-м растворе хитозана, затем отделяли от раствора и слегка подсушивали. Полученные микрокапсулы прозрачно-белого цвета имели правильную сферическую форму, были мягкими на ощупь, легко раздавливались пальцами. Средний диаметр капсул составил $1,1 \pm 0,3$ мм. По внешнему виду полученные капсулы практически не отличались от альгинатных, но после высушивания не имели микротрещин.

Для получения микрокапсул с включением активированного угля готовили 4%-ю суспензию угля. Предварительно таблетированный уголь растирали в ступке и просеивали через сито с размерами ячеек 0,25 мм. Полученную суспензию смешивали с равным количеством 4%-го раствора альгината натрия. Далее смесь капали в 0,2 М раствор хлорида кальция. Микрокапсулы оставляли «на созревание», после чего выдерживали в 0,4%-м растворе хитозана в течение часа, затем высушивали. Полученные микрокапсулы черного цвета имели неправильную сферическую форму, были мягкими на ощупь, легко раздавливались пальцами. Средний диаметр капсул составил $2,7 \pm 0,3$ мм.

По органолептическим показателям микрокапсулы соответствовали показателям, указанным в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика микрокапсул, полученных различными способами

Table 1

Characterization of microcapsules obtained by various methods

Материал	Описание микрокапсул	Средняя масса, мг	Диаметр, мм
Альгинат	Сферические частицы, белого цвета, поверхность гладкая	$2,5 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,2$
Альгинат-хитозан	Сферические частицы, коричневатого цвета, поверхность гладкая	$2,7 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,3$
Альгинат-уголь-хитозан	Неправильные сферические частицы, черного цвета, поверхность гладкая	$5,5 \pm 0,4$	$2,7 \pm 0,3$

Так как выбранные нами целевые компоненты (каротиноиды) являются жирорастворимыми веществами и их готовая форма представляет собой масляный экстракт, то для создания исходной для микрокапсулирования системы необходимо было приготовить водно-жировую эмульсию, содержащую жировую фазу, водорастворимый альгинат натрия – основу для оболочки микрокапсулы и эмульгатор для стабилизации (отсутствия расслаивания) эмульсии в течение промежутка времени, достаточного для полного завершения процесса. В первоначальных модельных опытах вместо масляного экстракта из туники асцидии использовали подсолнечное масло такое же, как было использовано для приготовления экстракта. Эмульсия, полученная путем перемешивания до однородности, состояла из 5 г масла, 50 мл дистиллированной воды и равного количества 4%-го раствора альгината натрия, оказалась нестабильной и расслаивалась в течение 15 мин. Поэтому для стабилизации эмульсии использовали эмульгаторы: ТВИН-80 (неионогенное поверхностно-активное вещество) и соевый лецитин.

Для этого растительное масло смешивали на гомогенизаторе с ТВИН-80 в соотношениях 50 : 1, 100 : 1, 200 : 1, смесь добавляли струйкой к раствору 4%-го альгината натрия. Таким же образом растительное масло смешивали с соевым лецитином в соотношениях

50 : 1, 100 : 1, 200 : 1 и добавляли к раствору 4 %-го альгината натрия. Оставляли эмульсии при комнатной температуре на 1 ч, наблюдали за стабильностью.

Все полученные образцы эмульсии не были стабильными и расслаивались в течение 15–20 мин. Среди этих образцов наиболее стабильным был образец с ТВИН-80 в соотношении эмульгатор : масло 50 : 1.

В следующем эксперименте определили влияние температуры на процесс эмульгирования и стабильность эмульсии. Для этого все процедуры проводили при температуре 50 °С, что соответствует пределу температурной стабильности каротиноидов. Для этого к 100 мл 4,5%-го раствора альгината натрия добавляли предварительно смешанные до однородного состояния 15 мл масла и 0,9 г ТВИН-80 и все компоненты гомогенизировали.

Полученная эмульсия сохраняла стабильность более 2 ч. Этого времени достаточно для проведения процесса микрокапсулирования.

При замене растительного масла на масляный экстракт каротиноидов и соблюдении вышеописанных условий полученные результаты опыта полностью совпадали с результатами модельного опыта.

Для оптимизации процесса эмульгирования и улучшения структуры и стабильности эмульсии использовали обработку ультразвуком (УЗ). Для этого раствор альгината натрия смешивали со смесью масляного экстракта асцидии с помощью ультразвуковой установки до однородной массы при температуре 50 °С с помощью ультразвукового гомогенизатора Vibra-Cell при следующих условиях: амплитуда 100 %, что соответствует мощности излучения 130 Вт, 20 кГц. Этот процесс занимал в среднем 3 мин.

Согласно результатам работ по совершенствованию способа эмульгирования, суммированным в табл. 2, эмульсия, образованная с применением УЗ, обладала наилучшей структурой и наименьшей вязкостью, что позволило пропускать ее через иглу меньшего диаметра (0,2 мм) и получать таким образом капсулы меньшего размера.

Таблица 2

Свойства эмульсионных систем для получения микрокапсул

Table 2

Properties of emulsion systems for the preparation of microcapsules

Состав компонентов системы	Стабильность эмульсии при 20 °С, мин	Стабильность эмульсии при 50 °С, мин	Вязкость при 50°С, Па·с
Альгинат + масло	10±3	18±2	-
Альгинат + масло : ТВИН-80 (200 : 1)	10±3	18±2	-
Альгинат + масло : ТВИН-80 (100 : 1)	10±3	18±2	-
Альгинат + масло : ТВИН-80 (50 : 1)	16±3	47±7	14
Альгинат + масло : ТВИН-80 (50 : 1) Обработка УЗ	16±3	47±7	11
Альгинат + масло : лецитин (200 : 1)	10±3	15±2	-
Альгинат + масло : лецитин (100 : 1)	10±3	15±2	-
Альгинат + масло : лецитин (50 : 1)	10±3	15±2	-

Таким образом, разработана методика микрокапсулирования масляного экстракта каротиноидов для дальнейшего использования в пищевых продуктах. При этом модифицированы состав и метод эмульгирования масляного экстракта. Применение ультразвуковой

обработки позволило снизить концентрацию альгината натрия и тем самым уменьшить густоту эмульсии и облегчить ее прохождение через иглу капсулятора.

В табл. 3 представлены рецептурный состав эмульсии, взятой для приготовления капсул, компонентный состав капсул и их энергетическая ценность. Энергетическую ценность альгината и хитозана приравнивали к таковой пищевых волокон, исходя из известных сведений о том, что 1 г ферментируемых в толстой кишке пищевых волокон в среднем содержит около 1,5 ккал [12].

Таблица 3

**Рецептура и состав компонентов микрокапсул с масляным экстрактом
из туники асидии на 100 г конечного продукта**

Table 3

**Recipe and composition of components of microcapsules with oil extract
from tunic of ascidia per 100 g of final product**

Компонент	Содержание, г
Компоненты для составления эмульсии	
Альгинат натрия	4
Масляный экстракт асидии	20
ТВИН-80	0,36
Вода	Остальное
Компонентный состав эмульсии, г	
Белки	0
Жиры	20 г
Пищевые волокна	4 г
Вода	Остальное
<i>Каротиноиды, мг</i>	25
Энергетическая ценность, ккал	186

Примечание. Определение содержания кальция и хитозана, вошедших в состав оболочки микрокапсул, не проводили.

Для исследования стабильности оболочки капсул в различных средах выдерживали их в течение 24 ч при следующих условиях: H₂O; 0,1 н. HCl; 1/15 М фосфатный буфер pH 8,5; 45%-й этанол, 0,01 н. и 0,1 н. NaOH. Результаты опыта представлены в табл. 4.

Таблица 4

Исследование стабильности оболочки микрокапсул в различных условиях

Table 4

Study of the stability of the microcapsule membranes under various conditions

Среда	1 ч	3 ч	24 ч	240 ч
Вода	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
0,1 н. HCl pH 2,5	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
0,5 М фосфатный буфер pH 7,0	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Полное растворение
0,5 М фосфатный буфер pH 8,5	Без изменений	Размывание оболочки	Полное растворение	Полное растворение
0,01 н. NaOH pH 9,2	Размывание оболочки	Частичное растворение	Полное растворение	Полное растворение
0,1 н. NaOH pH 11,0	Размывание оболочки	Частичное растворение	Полное растворение	Полное растворение
Этанол	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений

Таким образом, показано, что в воде, в кислой среде (соответствующей pH желудочного сока) и в среде органических растворителей капсулы остались стабильными. Дальнейшее хранение в течение 5 месяцев также не выявило изменений оболочки микрокапсул. Микрокапсулы оставались стабильными, деформации оболочки и вытекания содержимого не наблюдали. В щелочной среде происходило растворение оболочки, увеличение концентрации щелочи ускоряло процесс разрушения оболочки микрокапсулы. Полученные результаты косвенно моделируют поведение микрокапсул при прохождении через желудочно-кишечный тракт человека и позволяют говорить о том, что в желудке микрокапсулы не подвергаются разрушению, а в кишечнике постепенно растворяются.

Для того чтобы проверить стабильность микрокапсул при технологических операциях, которым они могут быть подвергнуты при приготовлении функциональных продуктов, исследовали их стабильность при различных температурах. Для этого выдерживали их в воде при 20, 50, 70 и 100 °C в течение 20 мин. В этих условиях не наблюдали разрушения оболочек микрокапсул. Следовательно, их можно применять для приготовления продуктов с использованием термообработки.

Физико-химические свойства микрокапсул, содержащих масляный экстракт из туники асцидии, представлены в табл. 5.

Таблица 5

Физико-химические свойства микрокапсул, содержащих масляный экстракт из туники асцидии

Table 5

Physical and chemical properties of microcapsules containing oil extract from tunic of ascidia

Диаметр иглы для пропускания эмульсии, мм	Диаметр капсулы, мм	Масса, мг	Насыпная плотность, г/см ³	Содержание каротиноидов, мкг/шт.
0,7	2,23±0,1	3,1±0,2	0,78 ±0,09	0,12±0,06
0,2	1,43 ±0,1	2,5±0,3	0,72 ±0,10	0,9±0,03

Органолептические свойства влажных капсул были следующими: легкая упругость, не затрудняющая разжевывания, с нейтральным вкусом без запаха, цвет светло-желтый. Таким образом, органолептические свойства полученных микрокапсул не имеют порочащих или вызывающих неприятие качеств, что позволяет использовать их для обогащения каротиноидами разнообразных пищевых продуктов.

Результаты проделанной работы позволяет сделать следующие выводы. Выбран оптимальный способ иммобилизации масляного экстракта каротиноидов из туники асцидии – микрокапсулирование – и установлен наиболее подходящий вариант его технологической реализации. Показано, что для создания оболочки микрокапсул целесообразно использовать альгинат натрия с его отверждением в среде хлористого кальция и стабилизацией оболочки в растворе хитозана. Для микрокапсулирования масляного экстракта каротиноидов необходимо получение стабильной эмульсии с использованием в качестве эмульгатора ТВИН-80. Обязательным условием эмульгирования является поддержание температуры 50 °C во время всего процесса и обработка ультразвуком. Микрокапсулы с оболочкой из альгината натрия с масляным экстрактом каротиноидов из туники асцидии, модифицированные хитозаном, соответствуют требованиям, предъявляемым к кишечнорастворимым формам: устойчивость в кислой среде (соответствующей pH желудочного сока) и в среде органических растворителей и распадаемость в щелочной среде. При выдержке микрокапсул в воде при 20, 50, 70 и 100 °C в течение 20 мин не наблюдалось разрушения оболочек

микрокапсул, следовательно, их можно применять для приготовления продуктов с использованием термообработки.

Список литературы

1. Типсина, Н.Н. Новые изделия функционального назначения / Н.Н. Типсина, Н.В. Присухина // Вестн. Красноярского государственного аграрного университета. – 2015. – № 4. – С. 62–66.
2. Литвишко, В.С. Микрокапсулированные ингредиенты для функциональных продуктов питания / В.С. Литвишко // Инновации: теоретические и практические аспекты: сб. ст. междунар. заочной науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2012. – С. 12–16.
3. Кролевец, А.А. Применение нано- и микрокапсулирования в фармацевтике и пищевой промышленности. Ч. 2. Характеристика инкапсулирования / А.А. Кролевец, Ю.А. Тырсин, Е.Е. Быковская // Вестн. Российской академии естественных наук. – 2013. – №1. – С. 77–84.
4. Степанова, Э.Ф. Микрокапсулы: Перспективы использования в современной фармацевтической практике / Э.Ф. Степанова, М.Е. Ким, К.Б. Мурзагулова, С.Б. Евсеева // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=14927> (дата обращения: 18.07.2017).
5. Anil K.A., Singh H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery // Singh Trends in Food Science & Technology. – 2007. – № 18. – P. 240–251.
6. Konishi I, Hosokawa M, Sashima T, Kobayashi H, Miyashita K. Halocynthiaxanthin and fucoxanthinol isolated from *Halocynthia roretzi* induce apoptosis in human leukemia, breast and colon cancer cells // Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. – 2006. – Vol. 142 (1–2). – P. 53–59.
7. Способ получения микрокапсул рыбных жиров: пат. 2557526 / Исаев В.А., Бенцианов Л.М., Симоненко С.В., Селиверстов В.К., Жуков А.Г. Оpubл. 20.07.2015.
8. Пищевой продукт, содержащий микрокапсулу для доставки полезного вещества/ (СА): пат. 200800269 / Маттсон П.Х., Горски Р.А., Фонг Б.И., Трингейл Л.М., Мэтью Д., Ди П.С. (US), Спурви Ш.Э., Робер Р., Бойден М. Оpubл. 29.10.2010.
9. Пивненко, Т.Н. Исследование биологической активности каротиноидов из асцидии *Halocynthia aurantium* / Т.Н. Пивненко, Е.С. Моторя, А.К. Гажа, А.Л. Шутикова // Тихоокеанский медицинский журн. – 2009. – № 3. – С. 28–32.
10. Martinsen A., Skjak-Braek C., Smidsrod M. Alginate as immobilization material: 1. correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads // Biotechnol Bioeng. – 1989. – Vol. 33. – P. 79–89.
11. Корочинский, А.В. Технологическая разработка иммобилизованных лекарственных форм с биоспорином и их исследования: автореф. дис. ... канд. фарм. наук : 14.04.01 / А.В. Корочинский. – Пятигорск, 2014. – 23 с.
12. Дружинин, П.В. Физико-химические свойства пищевых волокон / П.В. Дружинин, Л.Ф. Новиков, Ю.А. Лысыков. – Режим доступа: http://on-line-wellness.com/view_post.php?id=97. Дата обращения 22.05.2017.

Сведения об авторах: Пивненко Татьяна Николаевна, доктор биологических наук, профессор, e-mail: tnpivnenko@mail.ru;

Бунтуш Александра Евгеньевна, студентка гр. ТХм-212,
e-mail: aleksandrabuntush@inbox.ru

УДК 637.35 + 664.951

Ю.М. Позднякова, Т.Н. Пивненко

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ КОМБИНИРОВАННЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ С ДОБАВЛЕНИЕМ БАВ ГИДРОБИОНТОВ

Обоснован выбор водного биологического сырья для функциональных добавок при изготовлении комбинированных молочных продуктов, а именно: мягких сыров. Разработаны технологии получения мягкого сыра с добавлением нуклеопротеидных комплексов молок сельди, минтая, гонад приморского гребешка, масляного экстракта туники асцидии, мягких тканей двустворчатых моллюсков. Полученные продукты позиционируются как функциональные благодаря содержанию биологически активных компонентов: ДНК, каротиноидам, таурину, – обладают органолептическими показателями, свойственными мягким сырам, и соответствуют по показателям качества требованиям ТР ТС 021/2011.

Ключевые слова: комбинированные молочные продукты, функциональные добавки, нуклеопротеидные комплексы, каротиноиды, таурин, аминокислоты.

Yu.M. Pozdnyakova., T.N. Pivnenko

THE SUBSTANTIATION OF COMBINED LACTIC PRODUCTS TECHNOLOGY WITH ADDING BAS OF HYDROBIONTS

The choice of aqueous biological source for functional additives in the manufacture of combined milky products, precisely soft cheeses, is substantiated. Technologies for obtaining soft cheese with the addition of nucleoprotein complexes of herring, pollock milt, gonads of seashell, oil extract of tunic of ascidia, soft tissues of bivalve mollusks are developed. The products obtained are positioned as functional through the content of biologically active components: DNA, carotenoids, taurine, possess the organoleptic characteristics inherent in soft cheeses and meet the quality of TR TS 021/2011 requirements.

Key words: combined milk products, functional additives, nucleoprotein complexes, carotenoids, taurine, amino acids.

Введение

Проблема ресурсосбережения является актуальной задачей, приобретающей все большую значимость в условиях падения объемов производства молока и растущего спроса на молочные продукты. Поэтому любые технические решения, направленные на экономию молочного сырья, популярны и актуальны, тем более, если они приводят к снижению себестоимости и повышению конкурентоспособности продукции.

Мягкие кислотно-сычужные сыры являются белковыми продуктами, которые относятся к жизненно необходимым соединениям, служащим материалом для построения клеток тканей и органов, а также образования ферментов, большинства гормонов, гемоглобина и других сложных соединений, выполняющих в организме важнейшие функции. Как вариант удешевления молочной продукции при условии сохранения высокого качества является создание комбинированных аналогов молочных продуктов.

Повышение пищевой и биологической ценности мягких кислотно-сычужных сыров путем включения в их состав различного немолочного сырья усиливает положительное

действие белков и вводимых компонентов на организм, активизируя лечебные и профилактические свойства. Использование БАВ тканей гидробионтов открывает перспективы обогащения конечных продуктов эссенциальными аминокислотами, ДНК и другими необходимыми компонентами рационального питания.

В настоящее время разработан ряд способов создания комбинированных продуктов функциональной направленности. Для этого используют такие компоненты, как молоко, молочную закваску, соки различных растений, например, шпината, крепкого кофейного настоя, клюквы [1], ацидофильные микроорганизмы [2], белковые наполнители, например, эмульсию из рыбного фарша, растительного масла, соли и воды [3], и др. Основные технологические приемы заключаются в створаживании молока или молочной массы, нагреве, отделении от сыворотки, формовании, прессовании. Большинство подобных разработок направлено на улучшение органолептических показателей конечного продукта. Недостатками этих способов является использование искусственных красителей, либо невысокая биологическая ценность продукта, либо сложная технология производства с использованием большого числа различных компонентов.

Таким образом, введение биологически активных компонентов, полученных из морских гидробионтов, в состав мягких сыров позволит получить продукты широкого спектра функциональных направлений при сохранении исходных органолептических свойств и пищевой ценности.

Известно, что дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) из молок рыб обладает высокой биологической активностью и используется в качестве природного компонента, обладающего общеукрепляющим действием, повышающим сопротивляемость организма к действию неблагоприятных факторов внешней среды и устойчивость к заболеваниям, вызываемым общей ослабленностью организма, за счет стимуляции иммунной системы. Кроме того, ДНК из молок рыб активизирует физическую и умственную работоспособность, снижает уровень невротизации и эмоциональной напряженности, улучшает процессы памяти [4].

Туника асцидий рода *Halocynthia* содержит высокие концентрации каротиноидов [5, 6, 7]. В настоящее время установлено, что каротиноиды проявляют антиоксидантную, иммуномодулирующую, противоопухолевую активности, а также способны модулировать экспрессию генов, обеспечивая защиту от воспалительных повреждений и неопластических трансформаций [8, 9, 10].

Мягкие ткани двустворчатых моллюсков содержат большой спектр биологически активных компонентов. Прежде всего это аминокислоты. В мышцах двустворчатых моллюсков обнаружено наиболее высокое содержание свободных аминокислот, в том числе и незаменимых. Для состава свободных аминокислот тканей двустворчатых моллюсков характерно высокое содержание глицина, аланина, серина, аргинина и циклических аминокислот. Установлено, что доминирующими аминокислотами мышечных белков являются глутаминовая и аспарагиновая. В тканях двустворчатых моллюсков обнаружены цитруллин, гидроксизин, орнитин, 3-метил-гистидин, ансерин, саркозин [11]. Кроме того, мягкие ткани двустворчатых моллюсков содержат таурин, который обладает физиологическими свойствами, в числе которых регенеративное, нейромедиаторное, противосудорожное, стабилизирующее клеточные мембраны и др. [12].

Таким образом, обогащение мягких сыров биологически активными субстанциями, выделенными из рыб, моллюсков, асцидий с целью коррекции нарушенного иммунного статуса и повышения сопротивляемости, антиоксидантной защиты организма, нормализации функций клеточных мембран, активации энергетических обменных процессов, может

являться целесообразным применительно к получению продуктов функциональной направленности.

Целью настоящей работы являлось обоснование технологии мягких сыров по типу «Адыгейского» с добавлением различных тканей и БАВ гидробионтов.

Объекты и методы исследований

В качестве основного сырья для получения сыров использовали молоко (нормализованное, обезжиренное или восстановленное, кислую подсырную молочную сыворотку, сквашенную чистыми культурами кисломолочных бактерий, хранившуюся в термостате до нарастания кислотности 150–250 °Т. В качестве сырья для внесения при получении мягких сыров использовали нуклеопротеидные комплексы из молок минтая *Theragra chalcogramma*, сельди *Clupea pallasii pallasii*, гонад гребешка *Patinopecten yessoensis*, масляный экстракт туники асцидии *Halocynthia aurantium*, полученный по известному патенту (Пат. РФ 2339387), мягкие ткани спизулы сахалинской *Spisula sachalinensis* и мерценарии Стимпсона *Mercenaria stimpsoni*.

Базовая технология (ТУ 10.02.847-90 «Сыры мягкие и рассольные») получения мягкого сыра, взятая за основу, включает следующие стадии: пастеризация при температуре 93–95 °С нормализованного по жиру молока, добавление в него 8–10 % сыворотки, коагуляция белка, удаление из сырной массы сыворотки, формование, самопрессование.

Методы отбора проб проводили по Государственной Фармакопее СССР, XI изд., вып. 2; методы органолептической оценки качества – по Государственной Фармакопее СССР, XI изд. Определение показателя «Массовая доля воды и примесей нежирового характера» проводили согласно Государственной Фармакопее СССР, XI изд.

Определение содержания ДНК проводили по методу Спирина [13], белка – по методу Лоури [14], углеводов – антроновым методом [15], липидов – по методу Фолча [16].

Определение кислотности молочной сыворотки проводили по ГОСТ 3642-92 [17].

Микробиологические и токсикологические исследования проводили в соответствии ТР ТС 021/2011.

Результаты и обсуждение

В качестве базовой для получения мягких сыров с добавлением тканей и БАВ гидробионтов была взята технология получения адыгейского сыра, который относится к группе мягких сыров без созревания [18].

На первом этапе в качестве функциональной добавки (ФД) было предложено использовать нуклеопротеидный комплекс, выделенный из молок сельди, минтая или гонад морского гребешка, который получали методом щелочного высаливания. Для этого молоки (гонады) гомогенизировали с водой в соотношении 1 : 5, далее фильтровали для удаления неоднородных кусочков. В гомогенизированную смесь вливали насыщенный солевой раствор 21,2 % NaCl тонкой струей и одновременно осуществляли сбор нитей ДНК. Полученную ДНК промывали в 60–96%-м этиловом спирте и далее сушили на воздухе [19].

Внесение в мягкие сыры нуклеопротеидного комплекса, полученного из репродуктивных тканей минтая, сельди или морского гребешка, позволило бы получить продукт, обладающий общеукрепляющим действием благодаря содержанию ДНК.

В нуклеопротеидных комплексах минтая, сельди, приморского гребешка исследован состав белков и нуклеиновых кислот, который представлен в табл. 1.

Таблица 1

**Содержание белков и нуклеиновых кислот в нуклеопротеидных комплексах
из репродуктивных органов рыб и беспозвоночных, %**

Table 1

**The content of proteins and nucleic acids in nucleoprotein complexes from fish
and invertebrates reproductive organs, %**

Объект	ДНК	Белок
Минтай <i>Theragra chalcogramma</i>	27,9	60,2
Сельдь <i>Clupea pallasii</i>	46,8	43,2
Приморский гребешок <i>Patinopecten yessoensis</i>	34,2	55,5

На основании содержания ДНК в полученных комплексах было рассчитано количество вносимой в сыр ФД. Так как содержание ДНК в нуклеопротеидном комплексе сельди больше, чем в минтае и гребешке, то внесение его в сыр в количестве не менее 1 % от молочного сыра достаточно для достижения физиологического эффекта. Нуклеопротеидного комплекса гребешка необходимо вносить не менее 1,5 %, минтая – не менее 2 %.

Содержание ДНК в готовом продукте при внесении 1–2 % нуклеопротеидного комплекса от массы молочного сыра – 0,11–0,15 г на 100 г, что соответствует 73–100 % от рекомендуемого суточного потребления ДНК по техническому регламенту Таможенного союза (ТР ТС 021/2011).

Нуклеопротеидный комплекс ДНК минтая, сельди или гонад гребешка смешивали с водой в соотношении 1 : 1, давали набухнуть при комнатной температуре в течение 8 ч, затем добавляли в молочное сырье в количестве 0,5–2,5 % от массы молочного сыра. Далее технологические операции осуществляли, как описано в способе получения адыгейского сыра (пастеризация, внесение сыворотки, коагуляция белка, удаление из сырной массы сыворотки, формование, самопрессование).

Определение органолептических показателей готового продукта показало (табл. 2), что в концентрациях от 1 до 2 % вносимых наполнителей мягкие сыры соответствовали качеству данного вида продукта. Исходя из содержания ДНК в нуклеопротеидных комплексах, было определено рациональное количество вносимых компонентов, которое составило 1 % для НК молока сельди, 1,5 % – для гонад гребешка, 2 % – для молока минтая.

Таблица 2

Подбор содержания нуклеопротеидных комплексов в готовом продукте

Table 2

Selection of the content of nucleoprotein complexes in the finished product

Содержание нуклеопротеидного комплекса в готовом продукте, %	Органолептические свойства	Структура
1	2	3
0,5	Вкус, характерный для адыгейского сыра, цвет – белый	Структура плотная, хорошо держит форму
1	Появляется едва заметный оригинальный привкус, цвет – белый с розоватым оттенком	Структура плотная, хорошо держит форму

Окончание табл. 2

1	2	3
1,5	Присутствует оригинальный, но не отталкивающий привкус, цвет – белый с розоватым оттенком	Структура плотная, хорошо держит форму
2,0	Присутствует оригинальный, но не отталкивающий привкус, цвет – белый с розоватым оттенком	Структура плотная, хорошо держит форму
2,5	Появляется привкус морепродуктов, не характерный для мягких сыров	Структура слишком плотная, появляется жесткость

Таким образом, внесение нуклеопротеидного комплекса из репродуктивных тканей минтая, сельди, морского гребешка в мягкие сыры позволяет получить продукт, обладающий общеукрепляющим действием благодаря содержанию ДНК.

Вторым вариантом ФД было использование масляного экстракта туники асцидии пурпурной, обладающей антиоксидантным действием за счет высокого содержания каротиноидов [20].

Так как масляный экстракт асцидии при перемешивании с молочным сырьем после створаживания отходит не в творожную массу, а в сыворотку, то внесение этой добавки проводили уже в отпрессованную сырную массу, чтобы не было потерь биологически активных веществ.

Количество масляного экстракта асцидии подбирали из расчета содержания его в конечном продукте, которое удовлетворяло бы функциональности конечного продукта, которое обеспечивается содержанием каротиноидов (табл. 3). Внесение масляного экстракта из асцидии позволяет получить функциональный продукт, обладающий антиоксидантными свойствами, содержащий каротиноидов 0,0075–0,015 мг/г продукта, что составляет 15–20 % от рекомендуемой суточной нормы потребления (при употреблении 100 г продукта в день) в соответствии с Техническим регламентом Таможенного союза ТР ТС 021/2011.

Таблица 3

Подбор количества масляного экстракта асцидии

Table 3

Selection of the amount of the oil extract of ascidia

Содержание масляного экстракта в готовом продукте, %	Органолептические свойства	Структура
0,25	Вкус, характерный для адыгейского сыра, цвет – белый с оранжевым оттенком	Структура пластичная, хорошо держит форму
0,5	Появляется едва заметный оригинальный привкус, цвет – белый с оранжевым оттенком	Структура пластичная, хорошо держит форму
1,5	Присутствует оригинальный, но не отталкивающий привкус, цвет – белый с оранжевым оттенком	Структура пластичная, хорошо держит форму
2,0	Появляется привкус морепродуктов, не характерный для мягких сыров, цвет – оранжевый	Структура пластичная, хорошо держит форму

Кроме того, рациональное количество вносимого масляного экстракта определяли по органолептическим показателям. При внесении ФД менее 0,5 % от массы молочного сырья новый продукт изменял только цвет по сравнению с традиционным адыгейским сыром, кроме того, при таком количестве в готовом продукте содержание каротиноидов было меньше, чем 0,00375 мг/г продукта, что недостаточно для достижения функционального эффекта.

При внесении более 1,5 % ФД появлялся привкус морепродуктов, не характерный для мягких сыров.

Таким образом, рациональным содержанием масляного экстракта асцидии в готовом продукте следует считать 1,5 %.

Кроме биологического эффекта внесение экстракта из асцидии улучшает органолептические показатели – сыр приобретает приятный оранжевый оттенок без добавления искусственных красителей, а также обладает более мягкой консистенцией благодаря содержанию растительного масла. Таким образом, разработанная технология позволяет получить качественный продукт с улучшенной консистенцией, органолептическими характеристиками и антиоксидантными свойствами благодаря содержанию каротиноидов, а также позволяет расширить ассортимент функциональных добавок для изготовления мягких сыров.

Третьим вариантом ФД в мягкие сыры использовали мягкие ткани двустворчатых моллюсков – мерценарии и спизулы. Химический состав мягких тканей этих моллюсков следующий, %: воды – 85,4–86,5, белка – 5,2–8,3, углеводов – 1,3, липидов 2,2–2,5, минеральных веществ – 1,2. Аминокислотный состав характеризуется наибольшим содержанием незаменимых аминокислот: лизином, лейцином, треонином и валином, среди заменимых преобладают аспарагиновая и глутаминовая кислоты, аргинин и аланин [21]. Кроме того, биологическая ценность мягких тканей моллюсков заключается в том, что в составе присутствует аминокислота таурин в количестве 68,4 мкМ/г в мерценарии, 10,5 мкМ/г – в спизуле [12]. Ткани моллюсков предварительно бланшировали в воде в течение 2–3 мин. Первоначально при внесении бланшированных мягких тканей спизулы и мерценарии в молоко сыр получался крошливым, масса плохо формовалась. Для исправления этого недостатка в молоко вместе с ФД добавляли растительное масло в количестве 5–10 % от массы мягких тканей двустворчатых моллюсков.

В окончательном варианте ФД подготавливали следующим образом: мягкие ткани спизулы или мерценарии бланшировали 2–3 мин в воде, затем измельчали до однородного состояния на волчке или мясорубке с диаметром отверстий решетки 2,0 мм. Готовили смесь в соотношении ткань : вода : растительное масло (1 : 1 : 0,05–0,1) и гомогенизировали эту смесь на коллоидной мельнице и вносили поваренную соль из расчета 1,1–1,4 % от общей массы смеси.

Подбор количества ФД на основе мягких тканей спизулы и мерценарии представлен в табл. 4.

Таблица 4

Подбор количества функциональной добавки из спизулы

Table 4

Selection of the quantity of the functional additive from the spisula

Содержание мягких тканей спизулы в готовом продукте, %	Органолептические свойства	Структура
1	2	3
10	Вкус, характерный для адыгейского сыра, цвет – белый с бежевым оттенком	Структура пластичная, хорошо держит форму

Окончание табл. 4

1	2	3
20	Появляется едва заметный оригинальный привкус, цвет – белый с бежевым оттенком	Структура пластичная, хорошо держит форму
25	Присутствует оригинальный, но не отталкивающий привкус, цвет – белый с бежевым оттенком	Структура пластичная, хорошо держит форму
30	Появляется привкус морепродуктов, не характерный для мягких сыров, цвет – бежевый	Структура крошливая, плохо держит форму

При внесении ФД менее 20 % от массы молочного сырья продукт изменял только цвет по сравнению с традиционным адыгейским сыром, кроме того, при таком количестве в готовом продукте содержание биологически активных компонентов недостаточно для достижения функционального эффекта. При внесении более 25 % ФД консистенция сыра становилась крошливой, рассыпалась, не держала форму, кроме того, его органолептические показатели – цвет и вкус – становились неприемлемыми для мягких сыров.

Таким образом, внесение 20–25 % от массы молочного сырья мягких тканей двустворчатых моллюсков в качестве функциональной добавки в мягкие сыры позволит получить продукт, обладающий функциональными свойствами благодаря содержанию аминокислоты таурина, которая в комплексе с другими аминокислотами обеспечивает нормализацию функций клеточных мембран, активацию энергетических обменных процессов (<http://medzai.net/substances/taurin.php>). Количество таурина в готовом продукте: 170–255 мг на 100 г продукта, что составляет 42,5–63,75 % от адекватного уровня потребления таурина (Приложение 11 Технического регламента Таможенного союза 021/2011).

Кроме определения необходимой и достаточной концентрации вносимых компонентов во всех трех вариантах был осуществлен подбор кислотности количества сыворотки, температуры и времени выдерживания.

При проверке кислотности сыворотки и наблюдении за характером изменения сгустка было установлено, что наиболее приемлемой для данного вида продукта является сыворотка кислотностью 200–210 °Т. При кислотности, меньшей 200 °Т, белок не осаждался, а при кислотности свыше 210 °Т у продукта появлялся кислый привкус. Оптимальное количество введения молочной сыворотки составляло 30 % от массы молочного сырья и наполнителя.

Нагревание смеси молочного сырья, ФД и молочной сыворотки до температуры 95 °С и последующее выдерживание 7–9 мин являлось необходимым для процесса образования сырного сгустка и формирования органолептических свойств готового продукта. При выдерживании менее 7 мин сгусток получался мягкий, с повышенной влажностью. При увеличении времени выдержки свыше 9 мин консистенция сгустка становилась плотной, жесткой, плохо формировалась.

Во всех полученных сырах были проведены микробиологические и токсикологические исследования на соответствие их требованиям ТР ТС 021/2011. По ГОСТ Р 53379-2009 «Сыры мягкие. Технические условия» срок хранения адыгейского сыра составляет 10 сут при температуре от 0 до 6 °С. Установлено, что по показателям безопасности как свежеприготовленные, так и после хранения в течение 10 дней сыры соответствуют требованиям ТР ТС 021/2011.

Выводы

Таким образом, разработаны технологии получения мягких сыров различной функциональной направленности: с добавлением нуклеопротеидных комплексов молок минтая, сельди, гонад приморского гребешка, обладающего общеукрепляющим действием благодаря содержанию ДНК, с масляным экстрактом асцидии, обладающим антиоксидантным действием благодаря содержанию каротиноидов, с добавлением мягких тканей двусторчатых моллюсков мерценарии и спизулы, обладающим адаптогенными свойствами благодаря содержанию таурина.

Список литературы

1. Пат. РФ 2344616. Способ изготовления сыра / Щепочкина Ю.А. – Заявл. 25.12.2006; опубл. 27.01.2009.
2. Пат. РФ 2312507. Способ производства мягкого сыра / Германская Л.Г., Гаврилова Н.Б., Пасько О.В., Рыбченко Т.В. – Заявл. 09.08.2005; опубл. 20.12.2007.
3. Пат. РФ 2119750. Способ получения мягкого сыра / Шалдеева Н.В. – Заявл. 29.05.1997; опубл. 10.10.1998.
4. Беседнова, Н.Н. Иммуностимулирующие свойства дезоксирибонуклеиновой кислоты из молок лососевых рыб / Н.Н. Беседнова, Ю.И. Касьяненко, Л.М. Эпштейн, А.К. Гажа // Антибиотики и химиотерапия. – 1999. – № 10. – С. 13–15.
5. Ребачук, Н.М. Каротиноиды асцидии *Halocynthia aurantium* / Н.М. Ребачук, О.Б. Максисов, Л.Б. Богуславская, С.А. Федорев // Химия природных соединений. – 1985. – Т. 20, № 4. – С. 431–433.
6. Ookubo M., Matsuno T. Carotenoids of Sea Squirts – II. Comparative Biochemical studies of carotenoids in Sea Squirts // Comp. Biochem. Physiol. – 1985. – Vol. 81B, № 1. – P. 137–141.
7. Choi B.D., Kang S.J., Choi Y.J., Youm M.G., Lee K.H. Utilization of ascidian (*Halocynthia roretzi*) tunic. 3. Carotenoid composition of ascidian tunic // J. Korean Fish. Soc. – 1994a. – Vol. 27, № 4. – P. 344–350.
8. Miki W. Biological functions and activities of animal carotenoids // Pure Appl. Chem. – 1991. – Vol. 63, I 1. – P. 141–146.
9. Nishino H., Tsushima M., Matsuno T., Tanaka Y., Okuzumi J., et al. Anti-neoplastic effect of halocynthiaxanthin, a metabolite of fucoxanthin // Anticancer Drugs. – 1992. – Vol. 3. – P. 493–497.
10. Konishi I., Hosokawa M., Sashima T., Maoka T., Miyashita K. Suppressive effects of alloxanthin and diatoxanthin from *Halocynthia roretzi* on LPS-induced expression of pro-inflammatory genes in RAW264.7 cells // J. Oleo Sci. – 2008. – Vol. 57, I. 3. – P. 181–189.
11. Есипенко, Р.В. Обоснование биотехнологии корбикулы японской с использованием молочной сыворотки / Р.В. Есипенко, Н.Н.Ковалев // Инновации и современные технологии пищевых производств: материалы междунар. науч.-техн. конф. 14–15 ноября 2013. – Владивосток: Дальрыбвтуз, 2013. – С. 207–209.
12. Аюшин, Н.Б. Таурин: Фармацевтические свойства и перспективы получения из морских организмов / Н.Б. Аюшин // Изв. ТИНРО. – 2001. – Т. 129. – С. 129–145.
13. ФС 42-3874-99. Метод определения ДНК по Спирину.
14. Lowry O., Rosenbrough N., Parr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–276.
15. Оленников, Д.Н. Модификация антронового метода количественного определения углеводов и его применение для анализа растительного сырья, содержащего полисахариды / Д.Н. Оленников, Л.М. Танхаева // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – Прил. 2. – С. 118–119.

16. Folch J., Lees M.A Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue // J Biol. Chem. –1957. – Vol. 226, № 1. – P. 497–509.

17. ГОСТ 3624-92. Молоко и молочные продукты. Титрометрический метод определения кислотности.

18. Пат. РФ 2189148. Способ получения мягкого сыра / Смирнова И.А., Остроумов Л.А., Гориславская Л.И. – Заявл. 10.07.2000; опубл. 20.09.2002.

19. Пат. РФ 2545964. Способ получения мягкого сыра / Ким И.Н., Позднякова Ю.М., Пивненко Т.Н., Назаренко Н.В., Костенко А.А. – Заявл. 19.12.2013; опубл. 10.04.2015.

20. Пат. РФ 2339387. Способ получения биологически активной добавки из асцидии / Задорожный П.А., Эпштейн Л.М., Ковалев Н.Н., Пивненко Т.Н., Якуш Е.В., Белорукова А.А., Моторя Е.С. – Заявл. 17.01.2007; опубл. 27.11.2008.

21. Ковалев, Н.Н. Технохимическая характеристика и обоснование биотехнологии спизулы сахалинской / Н.Н. Ковалев, Р.В. Есипенко, А.Н. Ковалев // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2016. – № 5. – С. 33–35.

Сведения об авторах: Позднякова Юлия Михайловна, кандидат технических наук, e-mail: pozdnyakova.julia@yandex.ru;

Пивненко Татьяна Николаевна, доктор биологических наук, профессор, e-mail: tnpivnenko@mail.ru.

УДК 664.95

Т.М. Бойцова¹, О.М. Антоненко²

¹Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б
ООО «Приморский центр сертификации»,
690091, г. Владивосток, ул. Алеутская, 41а

АНАЛИЗ РЫНКА МЯСНЫХ ПОЛУФАБРИКАТОВ: ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Определены предпочтения потребителей и основные производители мясных охлажденных полуфабрикатов в Приморском крае. Установлено, что для поддержания потребительского спроса необходимо использовать барьерные технологии, применять натуральные пищевые добавки и внедрять современные системы контроля производственного процесса и качества продукции.

Ключевые слова: мясные полуфабрикаты, потребители, барьерные технологии, натуральные добавки, качество.

T.M. Boitsova, O.M. Antonenko

ANALYSIS OF THE MARKET OF MEAT SEMI-FINISHED PRODUCTS: OPPORTUNITIES AND PROSPECTS

The preferences of consumers and the main producers of meat cooled semi-finished products in Primorsky Kray are determined. It is established that in order to maintain consumer demand it is necessary to use barrier technologies, apply natural food additives and introduce modern production control systems and product quality.

Key words: meat semi-finished products, consumers, barrier technologies, natural supplements, quality.

Введение

Рынок мяса и мясной продукции, который обладает стабильным спросом со стороны потребителей, значительной емкостью и быстрой оборачиваемостью является составной частью продовольственного рынка страны. При этом большое значение уделяется производству мясных полуфабрикатов, которое направлено на удовлетворение потребности населения в качественных продуктах питания. Отмечается постоянно растущая тенденция у потребителей к переходу от замороженных полуфабрикатов к охлажденным, что подтверждается активной динамикой развития и интенсивным ростом объемов выпуска охлажденного мяса и натуральных полуфабрикатов в общем объеме рынка мяса и мясопродуктов. При этом потребители отдают предпочтение продукции местных производителей, и если ранее основное значение при выборе покупки имела стоимость, то сегодня – это соотношение цена–качество с перевесом в сторону приобретения качественных полуфабрикатов.

Цель настоящих исследований – изучить региональный рынок мясных полуфабрикатов, выявить тенденции его развития и обозначить перспективные технологии производства мясных полуфабрикатов для удовлетворения потребностей потребителей.

Для достижения цели были поставлены задачи: изучить рынок мясопродуктов крупных городов Приморского края; определить основных производителей; выявить потребительские предпочтения по ассортиментной политике и по производителям; определить направление дальнейшего развития. В работе использованы методы эмпирического исследования и анализа полученных данных.

Результаты и их обсуждения

Анализ рынка городов Владивосток, Уссурийск и Артем показал, что в торговых сетях и магазинах представлены бренды как регионального, так и федерального значения. При этом доля продукции крупных компаний на рынке постоянно растет, сильные бренды вытесняют более слабые торговые марки, а крупные региональные производители даже выходят на федеральный уровень. Особенно активно развивается сегмент охлажденных полуфабрикатов, вырабатываемых с добавлением различных соусов и маринадов. В первую очередь, это связано с тем, что использование маринадов и соусов позволяет не только расширить ассортимент и увеличить выход продукта, усовершенствовать обычные и создать новые виды мясных изделий, но и создать условия для внесения различных добавок, позволяющих увеличить сроки годности готовых изделий, а следовательно, увеличить объемы производства и снизить себестоимость. Большое преимущество имеют предприятия, применяющие современные технологии в области производства и упаковки мясных охлажденных полуфабрикатов. В основном современные предприятия стремятся к выпуску как сложных комбинированных изделий, так и более простых и удобных в приготовлении полуфабрикатов.

По данным Территориального органа Федеральной службы государственной статистики по Приморскому краю (Примстат), индекс производства пищевых продуктов по состоянию на июль 2016 г. к июлю 2015 г. составил 87,8 %, к июню 2016 г. – 88,9 % (рис. 1) [1]. При этом производство полуфабрикатов мясных за январь–июль 2016 г. составило 8702,6 т, что к январю–июлю 2015 г. составляет 109,7 %. Этот показатель вырос и в целом по России. Производство полуфабрикатов мясных (мясосодержащих) подмороженных и замороженных к маю 2016 г. выше на 1,5 % по сравнению с показателем 2015 г. (рис. 2). Всего за 1-е полугодие 2016 г. к 1-му полугодю 2015 г. составило 101,9 %. Это подтверждает востребованность данной продукции среди потребителей.



Рис. 1. Индекс производства пищевых продуктов в Приморском крае
Fig. 1. The index of food production in Primorsky Krai



Рис. 2. Показатели производства полуфабрикатов мясных (мясосодержащих) подмороженных и замороженных в России
Fig. 2. Indicators of production of semi-finished meat (meat-containing) frozen and frozen in Russia

Розничная торговля выступает в роли последнего звена в канале распределения продуктов питания и осуществляет прямой контакт с потребителем, из-за чего именно торговые сети и магазины играют основную роль в формировании потребительского поведения.

В ходе проведения исследования было установлено, что ассортиментная политика современных торговых сетей и магазинов складывается за счет активного осуществления мониторинга потребностей населения и мгновенного реагирования на изменения рыночной ситуации. Предпочтения потребителей и востребованность предлагаемых продуктов формирует пути развития производственных предприятий.

Большинство торговых сетей имеют цеха, осуществляющие собственное производство различных групп пищевых продуктов: мясные полуфабрикаты, кулинарная продукция, кондитерские и хлебобулочные изделия. Данное обстоятельство оказывает влияние на ассортиментную политику торгового предприятия, вытесняя некоторые группы товаров промышленного изготовления.

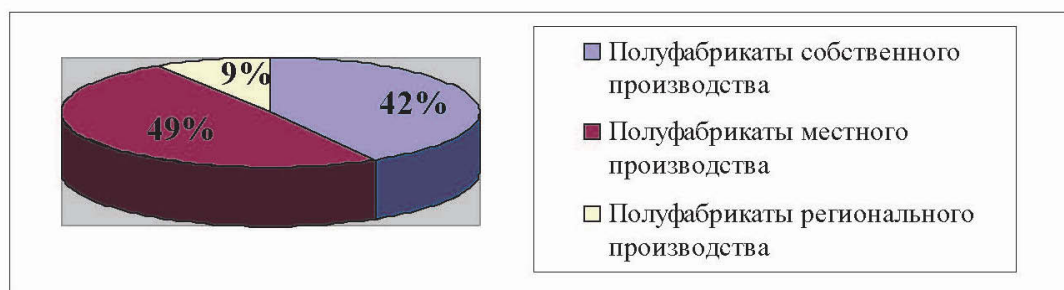


Рис. 3. Структура мясных полуфабрикатов в зависимости от производителя
Fig. 3. Structure of meat semi-finished products depending on the manufacturer

Анализ данных показал, что в торговых сетях преобладают полуфабрикаты, выработанные мясоперерабатывающими предприятиями Приморского края (49 %), рис. 3. На 7 % ниже представлен ассортимент полуфабрикатов собственного производства торговых сетей (42 %), и всего лишь 9 % от общего количества реализуется полуфабрикатов производства региональных предприятий мясной промышленности РФ.

Среди местных производителей на рынке представлено 9 мясоперерабатывающих предприятий, в числе которых наибольшая доля приходится на продукцию компании ООО «РАТИМИР» (56,6 %) и «Надежда-95» (21,1 %), рис. 4.

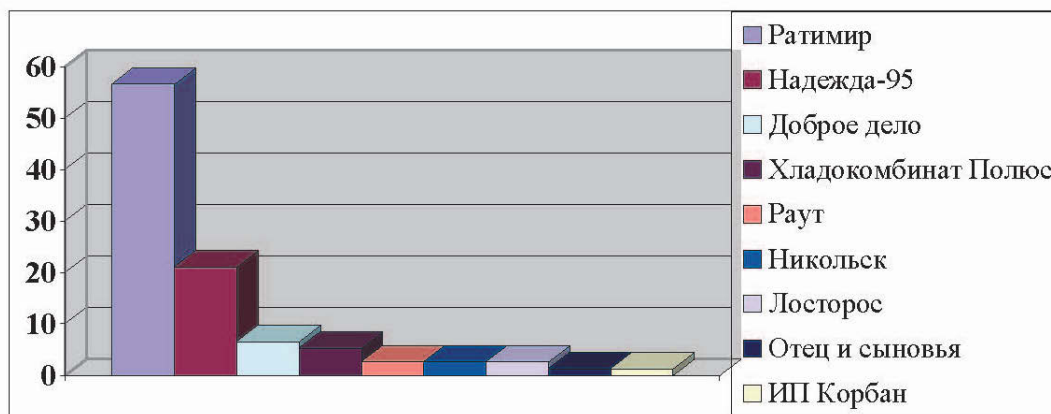


Рис. 4. Распределение продукции производителей Приморского края
Fig. 4. Distribution of products of Primorsky Kray producers

Охлажденная продукция представлена исключительно полуфабрикатами собственного производства торговых сетей и магазинов Приморского края, а продукция промышленного изготовления – преимущественно замороженными полуфабрикатами (рис. 5). Эти два обстоятельства объясняются тем, что супермаркетам, имеющим собственные цеха, выгоднее вырабатывать охлажденные полуфабрикаты, которые пользуются большим спросом и могут быть реализованы в короткие сроки. Ассортимент замороженных мясных изделий сформирован за счет продукции промышленных предприятий, которая имеет более длительные сроки годности и в случае низкого покупательского спроса не принесет существенных убытков торговому предприятию.



Рис. 5. Распределение полуфабрикатов по термическому состоянию
Fig. 5. Distribution of semi-finished products according to the thermal state

В некоторых супермаркетах на реализуемой продукции собственного производства отсутствует информация о наименовании сырьевых материалов, из которых изготовлены полуфабрикаты, тем самым производитель вводит в заблуждение потребителя. Кроме того, на ценниках размещается только название полуфабрикатов, зачастую исключительно фантазийное наименование, не соблюдается требование п. 109, п. 120 ТР ТС 034/2013 [2] об указании в наименовании или в непосредственной близости от наименования информации о группе и виде мясной продукции, не соблюдаются требования п. 4.1 Ст. 4 ТР ТС 022/2011 [3]. Все это создает определенные трудности при контроле качества продукции, препятствует внедрению современных требований к сертификации производства, внедрению в технологический процесс современных систем качества, основанных на принципах *НАССР* и базирующихся на международных стандартах [4].

Для удовлетворения потребности покупателя в расфасованных качественных охлажденных мясных изделиях необходимо стабилизировать сроки годности полуфабрикатов, сделав их приемлемыми для реализации в торговых сетях и магазинах, избегать применения химических консервантов, но сохранив при этом натуральные свойства продукта. Это возможно за счет реализации разработанного комплекса барьерных факторов и использования в рецептурах мясных полуфабрикатов природных биологически активных добавок.

На сегодняшний день всё большее распространение в мясоперерабатывающей отрасли получает применение барьерных технологий на всех этапах производства пищевой продукции, ее хранения, транспортирования и реализации. Использование барьерных технологий позволяет производителю непрерывно контролировать и обеспечивать необходимый уровень безопасности мясных продуктов за счет точного и направленного подбора барьерных факторов. При этом необходимо отметить, что наиболее полный контроль за безопасностью полуфабрикатов обеспечивает применение нескольких барьерных факторов. Такое комбинированное действие оказывает синергетический эффект на продукт и позволяет гарантировать безопасность изделия с большей вероятностью, чем при использовании каждого из барьерных факторов в отдельности [5].

Среди современных барьерных факторов, используемых в мясной отрасли, наибольшее распространение получили:

- Необходимость входного контроля каждой партии сырья животного происхождения на определение начальной обсемененности сырья, что оказывает прямое влияние на сроки годности продукта и является фактором, определяющим степень его безопасности и качества [6]. Контроль по всем показателям качества и безопасности и производственный контроль всех пищевых ингредиентов и упаковки.

- Использование низких температур на всех этапах технологического процесса – от приема сырья до упаковывания и хранения, что способствует повышению плотности воды, замедлению скорости протекания химических и биологических процессов, ингибированию развития большинства видов микроорганизмов, за исключением плесеней.

- Контроль в период транспортировки, хранения и реализации температурно-влажностных параметров [6, 7].

- Поддержание санитарно-гигиенических условий производственных помещений и оборудования, обеспечение повышенных требований к санитарному состоянию производства, разделки, переработки и упаковки готовых полуфабрикатов [8].

- Использование ультрафиолетового излучения в качестве бактерицидного фактора для обработки воздуха и рабочих поверхностей на предприятии. По ходу осуществления производственного процесса на предприятии используют фильтры для тонкой, в том числе бактерицидной, очистки воды, применяют установки озонирования и УФ-облучения воздуха и рабочих поверхностей производственных помещений и технологического оборудования, ультразвук – для обеззараживания и дезинфекции производственных цехов [7].

- Использование консервантов, антиоксидантов и регуляторов кислотности или других пищевых добавок.

Специализированные добавки, позволяющие гарантировать качество и сохранность продуктов в течение длительного времени практически всегда используются в комбинации со всеми перечисленными барьерными факторами. В то же время основные виды специализированных добавок – это специальные разрешенные к использованию химические вещества. Натуральные барьерные добавки не столь многочисленны, но их исследование и использование в технологии пищевых продуктов, в том числе в мясных охлажденных полуфабрикатах, ведется довольно активно. Эти добавки показывают свою эффективность и не уступают, а иногда и превосходят по степени воздействия химические добавки.

При проведении нами ранее сравнительных исследований влияния химического консерванта «Robin SL» и натуральных добавок «Фуколам-С» и «Тингол-2» на сроки годности мясных охлажденных полуфабрикатов типа шашлык «Традиционный» было установлено, что их использование позволяет увеличить срок годности продукта на 30–40 % при равных условиях хранения [9,10].

Выводы

Следовательно, потребность населения в мясных охлажденных полуфабрикатах стабильна. Количество предприятий, способных осуществлять выпуск, достаточно. Для поддержания устойчивого спроса необходимо постоянно совершенствовать технологический процесс, применять комбинации различных барьерных факторов, использовать натуральные природные добавки, внедрять современные системы регулирования и контроля качества на принципах, рекомендованных международными стандартами.

Список литературы

1. Территориальный орган Федеральной службы государственной статистики по Приморскому краю (Примстат) [Электронный ресурс] Официальный сайт.

2. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 034/2013 «О безопасности мяса и мясной продукции», принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 09.10.2013 № 68.

3. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 022/2011 «Пищевая продукция в части ее маркировки», утвержден Решением Комиссии Таможенного союза от 09.12.2011 № 881.

4. ISO 22000:2005 «Системы менеджмента в области безопасности продовольствия и пищевой продукции – Требования для любых организаций в цепи поставок» (Food safety management system – Requirements for any organization in the food chain).

5. Доржиева, В.В. Разработка нового комбинированного мясопродукта с использованием барьерной технологии и принципов НАССР / В.В. Доржиева, И.А. Ханхалаева // Материалы междунар. науч.-практ. конф., посвященной памяти Василия Матвеевича Горбатова. – 2015. – № 1. – С. 159–160.

6. Жаринов, А.И. Принципы увеличения срока годности мяса и мясопродуктов / А.И. Жаринов // Мясные технологии. – 2014. – № 6 (138). – С. 30–33.

7. Жаринов, А.И. Принципы увеличения срока годности мяса и мясопродуктов / А.И. Жаринов // Мясные технологии. – 2014. – № 7 (139). – С. 30–35.

8. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 005/2011 «О безопасности упаковки», утвержден решением Комиссии Таможенного союза от 16.08.2011. № 769.

9. Антоненко, О.М. Влияние БАД «Тингол-2» на показатели качества и сроки годности мясных охлажденных полуфабрикатов / О.М. Антоненко, Т.М. Бойцова, Г.Н. Тимчишина, Л.В. Каравай, Л.В. Левочкина // Пищ. пром-сть. – 2013. – № 7. – С. 49–51.

10. Антоненко, О.М. Показатели качества и сроки годности мясных охлажденных полуфабрикатов с добавлением БАД «Фуколам-С / О.М. Антоненко, Т.М. Бойцова, К.В. Нижельская // Пищ. пром-сть. – 2016. – № 9. – С. 44–47.

Сведения об авторах: Бойцова Татьяна Марьяновна, доктор технических наук, профессор, e-mail: boitsova_tm@mail.ru;

Антоненко Ольга Михайловна, ведущий инженер-эксперт систем качества и безопасности предприятий пищевой промышленности и общественного питания, e-mail: antonenko.om@mail.ru.

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЬИ

Статья должна соответствовать научным требованиям, быть интересной достаточно широкому кругу российской научной общественности.

Материал, предлагаемый для публикации, должен быть оригинальным, не опубликованным ранее в других печатных изданиях, написан в контексте современной научной литературы и содержать очевидный элемент создания нового знания.

За точность воспроизведения имен, цитат, формул, цифр несет ответственность автор.

Объем статьи (включая список литературы, таблицы и надписи к рисункам) должен быть от 4 до 12 страниц; текст – в формате A4; наименование шрифта – Times New Roman; размер (кегель) шрифта – 12 пунктов; все поля должны быть 2 см, отступ (абзац) – 1 см, межстрочный интервал – одинарный.

Текст статьи набирать без принудительных переносов, слова внутри абзаца разделять только одним пробелом, не использовать пробелы для выравнивания. Следует избегать перегрузки статей большим количеством формул, дублирования одних и тех же результатов в таблицах и графиках.

Границы таблиц и рисунков должны соответствовать параметрам полей текста. Математические уравнения и химические формулы должны набираться в редакторе формул Equation (MathType) или в Редакторе MS Word, одним объектом, а не состоять из частей, сами формулы должны быть 12-14 кегля.

Формулы и уравнения печатаются с новой строки и нумеруются в круглых скобках в конце строки.

Рисунки должны быть представлены в формате *.jpg или *.tiff. Подписная подпись должна состоять из номера и названия (Рис. 1. ...). В тексте статьи обязательно должны быть ссылки на представленные рисунки. Графики, диаграммы и т.п. рекомендуется выполнять в программах MS Excel или MS Graph. Таблицы должны иметь заголовки и порядковые номера. В тексте статьи должны присутствовать ссылки на каждую таблицу.

Допускаются смысловые выделения – полужирным шрифтом.

Статья должна включать следующие данные:

1. Индекс УДК (на первой странице в левом верхнем углу).
2. Инициалы и фамилии всех авторов, через запятую.
3. Полное название учреждения (место работы), город, почтовый адрес и индекс.

Если авторов несколько и они работают в разных учреждениях, возле названия каждого учреждения и фамилии автора ставится соответствующий надстрочный символ.

4. Над фамилиями авторов справа указывается один из следующих разделов сборника:

- **Ихтиология. Экология.**
- **Промышленное рыболовство. Акустика.**
- **Судовые энергетические установки, устройства и системы, технические средства судоводования, электрооборудование судов.**
- **Технология и управление качеством пищевых продуктов.**
- **Технологическое и транспортное оборудование рыбохозяйственной отрасли.**

5. Заголовок. Название статьи должно быть кратким (не более 10 слов). Заголовок набирают полужирными заглавными буквами. В заголовке не допускается употребление сокращений, кроме общепризнанных.

6. Аннотацию (не более 700 печатных знаков) набирают курсивом.

7. Ключевые слова (не более 9).

8. Текст статьи обязательно должен содержать следующие разделы (возможно выделение данных разделов в тексте):

Введение

Объекты и методы исследований

Результаты и их обсуждение

Выводы

9. Список литературы оформляется согласно ГОСТ 7.0.5-2008 «Библиографическая ссылка». Список литературы приводится в порядке цитирования работ в тексте в квадратных скобках [1, 2, 3].

На английском языке необходимо предоставить следующую информацию (после ключевых слов на русском языке):

- инициалы и фамилии авторов;
- заглавие статьи;
- текст аннотации;
- ключевые слова (Key words);
- подписи к рисункам и названия таблиц (приводятся в тексте по смыслу).

Сведения об авторах приводятся в конце статьи (после списка литературы) и включают в себя: Фамилия, имя, отчество (полностью), научная степень, звание, должность, e-mail.

В редакцию предоставляются:

1. Электронная версия статьи в программе MS Word 3 на CD диске, флэш-носителе или отправляется на электронный адрес редакции (nauch-tr@dgtru.ru). Файл статьи следует назвать по фамилии первого автора – Петров А.А.doc. Не допускается в одном файле помещать несколько файлов.

2. Распечатанный экземпляр статьи, строго соответствующий электронной версии.

3. Сопроводительное письмо на имя главного редактора сборника на бланке направляющей организации о возможности опубликовать научную статью в сборнике, с подписью руководителя учреждения (заверенной печатью), в котором выполнена работа, или его заместителя (сотрудникам Дальрыбвтуза не требуется сопроводительное письмо).

4. Экспертное заключение о возможности публикации в открытой печати с гербовой печатью организации.

5. Заявка (Ф.И.О., город, учреждение, название статьи, название рубрики, контактные (рабочий, сотовый) телефоны, дата подачи статьи).

Плата с аспирантов за публикацию рукописей не взимается.

Пример оформления статьи

УДК 123

Ихтиология. Экология

А.А. Иванов¹, И.Б. Петров²

¹ Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

² Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр,
690091, г. Владивосток, пер. Шевченко, 4.

НАЗВАНИЕ СТАТЬИ

Аннотация.

Ключевые слова: гидробионты.

Данные на английском языке.

Текст статьи (по ширине страницы) [1, 2, 3].

Список литературы

Сведения об авторах: Иванов Александр Александрович, кандидат технических наук, доцент, e-mail: ivanova@mail.ru;

Петров Игорь Борисович, кандидат биологических наук, профессор, научный сотрудник, e-mail: petrov@mail.ru.

Адрес: 690087, Россия, Владивосток, ул. Луговая, 52б, каб. 412б

Тел./факс: (4232) 44-11-76 e-mail: nauch-tr@dgtru.ru

сайт: <http://nauch-tr.dgtru.ru>

Научное издание

НАУЧНЫЕ ТРУДЫ ДАЛЬРЫБВТУЗА

Сборник научных статей

Том 42

Свидетельство Роскомнадзора о регистрации
ПИ № ФС77-45533 от 16 июня 2011 г.

Подписной индекс 64553
(каталог агентства «Роспечать»)

Редактор Т.В. Ломакина
Художественный редактор С.П. Конищев
Макет, обложка О.В. Нечипорук
Мастер печати Н.В. Сауцкая

Подписано в печать 18.09.2017. Дата выхода в свет: 28.09.2017.
Формат 60х84/8. Усл. печ. л. 12,55. Уч.-изд. л. 9,50.
Заказ 0651. Тираж 400 экз. (1-й завод 46 экз.). Цена свободная.
Отпечатано: Издательско-полиграфический комплекс Дальневосточного
государственного технического рыбохозяйственного университета
690000, г. Владивосток, ул. Светланская, 27