

Изучение структурно-механических свойств биополимеров с целью получения продукта типа капсул

Александр Ю. Соколов¹ sokolov.ay@rea.ru  0000-0002-5433-6429Дарья И. Шишкина¹ shishkina.di@rea.ru  0000-0002-0620-8465¹ Российский Экономический Университет им. Г.В. Плеханова, Стремянный пер., 36, г. Москва, 117997, Россия

Аннотация. В статье представлены отдельные теоретические и экспериментальные данные о перспективных технологиях, а именно, процессах получения искусственных пищевых материалов типа сфер или «икры». Они получены на основе молекулярных процессов: солюбилизации, сферификации и т.п. Возможные сферы применения – пищевая промышленность, индустрия общественного питания, биотехнологии и другие. Различают особенности получения искусственных продуктов на основе альгинатов. Особенности структурирования альгинатов заключаются в том, что возможно образование гелевого слоя – инкапсулирование и образование геля по всей толщине продукта за счет особых химических свойств фиксирующей соли. На основе теории молекулярной структуры биополимеров, разрабатывались молекулярные технологии для синтеза искусственных продуктов питания, на примере молекулярной «икры». В результате собственных опытов получен удовлетворительный по органолептическим и физико-химическим свойствам капсулированный продукт из сшитого солями Ca²⁺ биополимера. Коллоидный раствор биополимера для формования «икринок» был охарактеризован с помощью метода ротационной вискозиметрии, показавшей особенности раствора альгината натрия как структурированного тиксотропного материала, для которого характерно «затруднение» сдвига на низких скоростях вращения ротора вискозиметра. Далее на реограмме такой материал проявляет прогнозируемое относительно стабильное течение. Вследствие этого, он может использоваться для выработки полуфабрикатов заданной формы и текстуры в качестве пищевого полуфабриката или продукта. При условии доработки технологии, не исключено применение коллоидных систем на базе альгинатов и других биополимеров в биотехнологии, в т.ч. культивировании микроорганизмов различных таксономических групп.

Ключевые слова: биополимеры, реология, икра молекулярная, капсулы, альгинат натрия

Study of the structural and mechanical properties of biopolymers in order to obtain a capsule-type product

Alexander Yu. Sokolov¹ sokolov.ay@rea.ru  0000-0002-5433-6429Darya I. Shishkina¹ shishkina.di@rea.ru  0000-0002-0620-8465¹ Plekhanov Russian University of Economics, Stremyanny lane, 36, Moscow, 117997, Russia

Abstract. The article presents some theoretical and experimental data on promising technologies, namely, the processes of obtaining artificial food materials such as spheres or "caviar". They are derived from molecular processes: solubilization, spherification, etc. Possible applications are the food industry, the food service industry, biotechnology, and others. There are different features of obtaining artificial products based on alginates. The peculiarities of the alginate structuring are that it is possible to form a gel layer-encapsulation and gel formation over the entire thickness of the product due to the special chemical properties of the fixing salt. Based on the theory of the molecular structure of biopolymers, molecular technologies for the synthesis of artificial food products were developed, using the example of molecular "caviar". As a result of our own experiments, we obtained a satisfactory encapsulated product from a biopolymer crosslinked with Ca²⁺ salts in terms of organoleptic and physico-chemical properties. The colloidal biopolymer solution for forming "eggs" was characterized using the method of rotational viscometry, which showed the features of the sodium alginate solution as a structured thixotropic material, which is characterized by "difficulty" of shear at low speeds of rotation of the viscometer rotor. Further on the rheogram, such material exhibits a predicted relatively stable flow. As a result, it can be used to produce semi-finished products of a given shape and texture as a food semi-finished product or product. If the technology is refined, it is possible to use colloidal systems based on alginates and other biopolymers in biotechnology, including the cultivation of microorganisms of various taxonomic groups.

Keywords: biopolymers, rheology, molecular caviar, capsules, sodium alginate

Введение

В Перечень критических технологий Российской Федерации включены био-, нано-протеомные и другие важнейшие технологии, которые обуславливают перспективность разрабатываемой проблемы исследований природных биополимеров, в т. ч. белков, полисахаридов и т. п. [1].

Для цитирования

Соколов А.Ю., Шишкина Д.И. Изучение структурно-механических свойств биополимеров с целью получения продукта типа капсул // Вестник ВГУИТ. 2021. Т. 83. № 1. С. 248–252. doi:10.20914/2310-1202-2021-1-248-252

Остаются малоизученными проблемы направленной модификации и дальнейшей переработки указанных биополимеров для пищевых целей. Однако, ряд задач получения и модификации биополимеров из разных источников уже изучены к настоящему моменту [7–9].

В связи с актуальностью проблемы исследований биополимеров, разрабатывали

For citation

Sokolov A.Yu., Shishkina D.I. Study of the structural and mechanical properties of biopolymers in order to obtain a capsule-type product. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2021. vol. 83. no. 1. pp. 248–252. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2021-1-248-252

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License

молекулярные технологии пищевых сред, основанные на базовых физико-химических принципах – гидратация, студнеобразование, сферификация, капсулирование и тому подобные. В отечественных профессиональных журналах и сборниках трудов больше данных медицинского характера, особенно по исследованиям связующих, комплексообразующих свойств биополимеров в технологиях лекарственных форм [2].

Биополимеры-альгинаты представлены в Food Chemicals Codex (США) и имеют статус безопасных ингредиентов (GRAS). Важнейшим свойством производных альгиновой кислоты является гелеобразование (в присутствии ионов кальция либо в кислой среде). Контролируемое взаимодействие альгината натрия и кальциевых солей обеспечивает надлежащее гелеобразование, для которых характерны необратимость сдвига и термостойкость. Реструктурированные продукты (из кусочков мяса, рыбы, овощей и т. п.) производят с добавлением 1–2% по массе альгината (A. Imeson et. al.) [10]. Процесс изготовления структурированного мяса с использованием альгинатных гелей был запатентован учеными Государственного университета Колорадо. Особенности структурирования альгинатов заключаются в том, что возможно образование гелевого слоя – инкапсулирование и образование геля по всей толщине продукта за счет особых химических свойств фиксирующей соли, R. Tarte [11].

Однако, в последние годы очевиден дефицит информации именно по молекулярным процессам в биополимерах, используемых как различные пищевые среды или матрицы либо гели [3]. В связи с вышесказанным, поставили цель работы – изучить структурно-механические свойства соллобализированных биополимеров для формирования полупродукта типа капсул или «икры» для кулинарных целей.

Материалы и методы

Физико-химические эксперименты выполняли при стандартных лабораторных условиях (температура 20 ± 2 °С, влажность 40–60%). В первую очередь, альгинат гидратировали в течение ночи. На вид – это полупрозрачная опалесцирующая коллоидная масса, весьма густая при перемешивании. Таким образом, получали «основу» для приготовления искусственной (молекулярной) икры – коллоидный раствор альгината натрия с концентрацией $\approx 1,4$ –1,5%.

В этой связи, для обоснования технологических процессов диспергирования биополимера данной группы (ее нагнетания, течения, транспортирования [15]), была измерена динамическая вязкость указанной массы с помощью ротационного вискозиметра «Полимер РПЭ-1М»;

метод исследования вязкости и его условия регламентированы ГОСТ 25276 [5]. Анализ гистологической структуры выполнялся методом световой микроскопии с фотографированием препаратов с помощью фото – видеокамеры «Lomo» с матрицей 5 мП.

Для получения молекулярной икры полученный раствор альгината с помощью перистальтического насоса вводили в 20% раствор хлорида натрия, далее происходила фиксация получаемых капсул в течение 10–15 мин. Далее полупродукт отмывали от избытка фиксирующей соли и помещали в банки с крышкой.

Результаты

Учитывая тот факт, что качество (форма, текстура) получаемого искусственного продукта (икры) зависит от структуры и равномерности нагнетания раствора полисахарида в фиксирующий раствор, основное внимание уделили изучению реологических свойств раствора альгината натрия.

При исследованиях реологических свойств раствора альгината натрия выявлена степенная зависимость динамической вязкости от скорости сдвига ротора; коэффициент достоверности аппроксимации $R^2 \approx 0,8$ (рисунок 1).

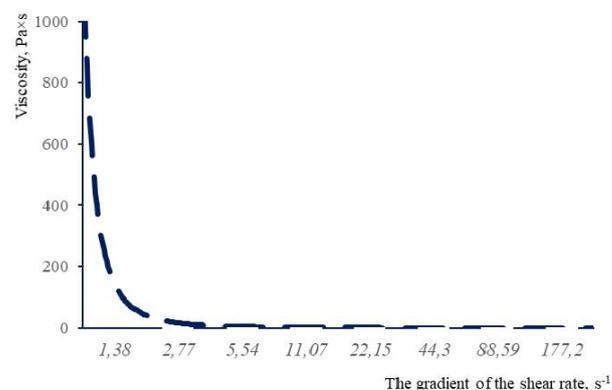


Рисунок 1. Реограмма альгината натрия концентрацией 1,45% [4]

Figure 1.. Rheogram of sodium alginate with a concentration of 1.45% [4]

Анализ представленной реограммы выявил тенденцию практически обратно пропорционального убывания эффективной вязкости раствора биополимера (альгината Na) в зависимости от скорости сдвига ротора вискозиметра. Однако, при минимальных скоростях вращения ротора (около $1,00 \div 1,38$ s^{-1}) наблюдается значительное затруднение процесса сдвига в растворе биополимера, а затем вязкость резко снижается. Следовательно, исследованная жидкость относится к группе неньютоновских, то есть тиксотропных материалов.

Далее, с целью моделирования процесса изготовления искусственной икры использовали растворы биополимера – альгината натрия, модификатора (фиксатора) – хлорида кальция, а также, при необходимости видоизменения органолептических свойств, можно вводить ароматизаторы и красители пищевые, согласно технической документации.

Опыты выполняли при стандартных лабораторных условиях. Основой для приготовления искусственной молекулярной икры служил раствор альгината натрия ($C \approx 1,4 \div 1,5\%$), который, как известно [6], включает фракции – полиманнуронаты, полигулуронаты и т. п. Биополимер под некоторым избыточным давлением через фильеру продавливается в раствор хлорида кальция, что обеспечивает его сферификацию и мгновенную фиксацию за счет комплексообразующего (таннирующего) действия ионов Ca^{2+} . Так формируются капсулы или «икринки», в зависимости от сферы дальнейшего применения.

Гистологическая структура полученного полупродукта представленна на рисунке 2. Внешний вид данного продукта – это почти сферические частицы типа капсул с внутренней жидкой фазой и оболочкой, которые напоминают натуральную икру [4].

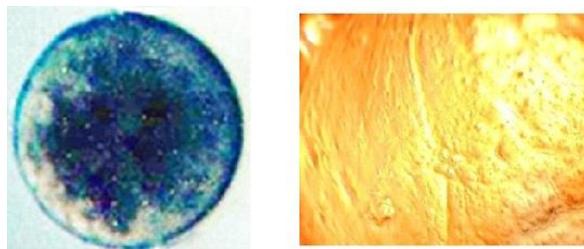


Рисунок 2. Гистологическое строение молекулярной икры (а) и микроструктура поверхности (б), $\times 40-100$

Figure 2. Histological structure of molecular eggs (a) and surface microstructure (b), $\times 40-100$

При гистологическом анализе изучаемого препарата, в данном случае «икры» (рисунок 2,а), отметили относительно правильное строение химически связанного биополимера и плотность архитектоники. Однако, следует отметить микрослоистость биополимерного материала, видимо, за счет особенностей его формирования в лабораторных условиях при помощи шприца или лабораторного перистальтического насоса (рисунок 2,б).

Результаты сравнивали с данными зарубежных авторов. Так, M. Alipor, N. Firouzu et. al. изучили альгинат/желатиновые микрокапсулы [12].

J. Yan, X. Leang, C. Ma, выявили особенности сшивания ионами Ca^{2+} биополимеров из группы альгинатов. Авторы отметили плотную микроструктуру, высокие вязкоупругие свойства гелей при использовании Ca^{2+} в концентрации 1,25 мМ. С. Hu, W. Lu, A. Mata указывают на возможности гелеобразования с помощью ионов одно-, двух- и трехвалентных катионов (H^+ , Ca^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+}), которые обуславливают разные свойства гелей и, соответственно, различные применения. Данные особенности коррелируют с результатами настоящей работы.

На основе биополимеров (производные альгината Na) получают эмульсии Пикеринга, с высокими молекулярными массами (до 685 кДа) и, соответственно, реологическими свойствами, перспективные для пищевой промышленности и других применений [15]. С. Gila-Vilchez et.al. удалось получить однородные вязко-эластичные гидрогели на основе альгинатов с иммобилизованными целевыми микрочастицами для технических и биомедицинских применений [16–20].

Учитывая полученные теоретические и экспериментальные результаты, их сопоставимость с данными российских и международных изданий, можно рекомендовать апробацию процесса сферификации в опытно-производственных условиях. Комбинирование биополимеров из групп полисахарид-белок для получения полуфабрикатов с заданными текстурой и свойствами, целесообразно изучить в дальнейшей экспериментальной работе.

Таким образом, в технологиях кулинарных полуфабрикатов и/или пищевой продукции мы получаем возможность имитировать дорогостоящую натуральную икру с заданными текстурой и вкусо-ароматической гаммой, что расширяет ассортимент пищевых добавок, покрытий типа топпингов и т. п.

Следующим этапом будет изучение процессов диспергирования, сферификации и других изменений, протекающих в белковых биополимерах, структуру и свойства которых мы изучали ранее [8, 9].

Следовательно, возможности применения изученных способов модификации биополимеров достаточно широки, это могут быть компоненты для пищевых продуктов (структурообразующие) и биотехнологий, в том числе компоненты сред для культивирования микроорганизмов, продуцирующих биологически активные вещества.

Заключение

Комплексный анализ результатов лабораторных испытаний свидетельствовал о том, что биополимеры приобретали в процессе их физико-химической модификации новые

органолептические, реологические и гистологические свойства и структуру. При моделировании процесса выработки искусственной икры отметили высоковязкие/упругие и достаточно стабильные во времени свойства основного материала – природного биополимера, специфику процесса связывания с помощью солей двухвалентных металлов, возможность направленной модификации вкусо-ароматических свойств с помощью различных пищевых добавок.

Кроме того, внимание уделено моделированию молекулярного процесса сферификации

природных биополимеров (на примере, альгинатов), что найдет применение в производстве инновационных искусственных полуфабрикатов и блюд.

Можно предполагать, что исследованные процессы вполне найдут применение при решении технических задач гранулирования и капсулирования с помощью биополимеров (таких как белки, полисахариды или их комплексы) пищевых добавок, фармацевтических и биологически активных веществ при соответствующем аппаратном оформлении и контроле их качества.

Литература

- 1 Перечень критических технологий Российской Федерации. 2020.
- 2 Кайшева Н.Ш., Кайшев А.Ш. Обоснование медицинского применения полиуронатов биогенных металлов в качестве катионообменных смол // *Микроэлементы в медицине*. 2017. Т. 18. №. 3. С. 42-48. doi: 10.19112/2413-6174-2017-18-3-42-48
- 3 Соколов А.Ю., Титов А.И., Апраксина С.К., Литвинова Е.В. Микроструктурные и реологические свойства коллагеносодержащего сырья при его модификации // *Мясная индустрия*. 2016. № 6. С. 43-45.
- 4 Соколов А.Ю. Изучение молекулярных процессов в природных биополимерах // *Безопасность и качество сельскохозяйственного сырья и продовольствия: сборник статей Всероссийской научно-практической конференции*. 2020. С. 643-645.
- 5 ГОСТ 25276–82 (СТ СЭВ 2972–81). Полимеры. Метод определения вязкости ротационным вискозиметром при определении скорости сдвига. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200020939>
- 6 Isnansetyo A., Dwi Jayanti A., Wahyu Kartika Sari D., Dewi Puspita I. et al. Modification of the Physical Properties of Alginate with the Addition of Polymannuronate and Polyglucuronate // *E3S Web of Conferences*. EDP Sciences, 2020. V. 147. P. 03005. doi: 10.1051/e3sconf/202014703005
- 7 Deb-Choudhury S., Cooney J., Brewster D., Clerens S. et al. The effects of blanching on composition and modification of proteins in navy beans (*Phaseolus vulgaris*) // *Food Chemistry*. 2021. V. 346. P. 128950. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128950
- 8 Gorlov I.F., Titov E.I., Semenov G.V., Slozhenkina M.I. et al. Collagen from porcine skin: a method of extraction and structural properties // *International Journal of Food Properties*. 2018. V. 21. № 1. P. 1031-1042. doi: 10.1080/10942912.2018.1466324
- 9 Titov E.I., Sokolov A.Yu., Litvinova E.V. et. al. Dietary fibres in preventative meat products // *Foods & Raw Materials*. 2019. V. 7. №. 2. P. 387–395.
- 10 Imeson A. *Food stabilisers, thickeners and gelling agents*. Chichester: Wiley-Blackwell, 2010. V. 34.
- 11 Tarté R. *Meat-derived protein ingredients* // *Ingredients in meat products*. Springer, New York, NY, 2009. P. 145-171. doi: 10.1007/978-0-387-71327-4_7
- 12 Alipor M., Firouzi N., Aghazadeh Z. et. al. The osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells in alginate-gelatin/Nano-hydroxyapatite microcapsules // *BMC biotechnology*. 2021. V. 21. №. 1. P. 1-12. doi: 10.1186/s12896-020-00666-3
- 13 Liang X., Ma C., Yan X., Zeng H. et al. Structure, rheology and functionality of whey protein emulsion gels: Effects of double cross-linking with transglutaminase and calcium ions // *Food Hydrocolloids*. 2020. V. 102. P. 105569. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105569
- 14 Fang X., Zhao X., Yu G. et. al. Effect of molecular weight and pH on the self-assembly microstructural and emulsification of amphiphilic sodium alginate colloid particles // *Food Hydrocolloids*. 2020. V. 103. P. 105593. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105593
- 15 Evageliou V. Shear and extensional rheology of selected polysaccharides // *International Journal of Food Science & Technology*. 2020. V. 55. №. 5. P. 1853-1861. doi: 10.1111/ijfs.14545
- 16 Gila-Vilchez C., Bonhome-Espinosa A.B., Kuzhir P. et. al. Rheology of magnetic alginate hydrogels // *Journal of Rheology*. 2018. V. 62. №. 5. P. 1083-1096. doi: 10.1122/1.5028137
- 17 Hu C., Lu W., Mata A., Nishinari K. et al. Ions-induced gelation of alginate: Mechanisms and applications // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021. V. 177. P. 578-588. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.02.086
- 18 Praseptianga D. Development of seaweed-based biopolymers for edible films and lectins // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. IOP Publishing, 2017. V. 193. №. 1. P. 012003.
- 19 Kontominas M.G. Use of Alginates as Food Packaging Materials // *Foods*. 2020. V. 9. P. 1440. doi: 10.3390/foods9101440
- 20 Chowdhury S., Chakraborty S., Maity M., Hasnain M.S. et al. Biocomposites of alginates in drug delivery // *Alginates in Drug Delivery*. 2020. P. 153-185. doi: 10.1016/B978-0-12-817640-5.00007-8

References

- 1 List of critical technologies of the Russian Federation. 2020. (in Russian).
- 2 Kaisheva N.Sh., Kaishev A.Sh. Substantiation of medical application of biogenic metal polyuronates as cation exchange resins. *Microelements in medicine*. 2017. vol. 18. no. 3. pp. 42-48. doi: 10.19112 / 2413-6174-2017-18-3-42-48 (in Russian).

- 3 Sokolov A.Yu., Titov A.I., Apraksina S.K., Litvinova E.V. Microstructural and rheological properties of collagen-containing raw materials during its modification. *Meat industry*. 2016. no. 6. pp. 43-45. (in Russian).
- 4 Sokolov A.Yu. Study of molecular processes in natural biopolymers. Safety and quality of agricultural raw materials and food: collection of articles of the All-Russian scientific and practical conference. 2020. pp. 643-645. (in Russian).
- 5 GOST 25276-82 (ST SEV 2972-81). *Polymers*. Method for the determination of viscosity by a rotary viscometer in determining the shear rate. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200020939> (in Russian).
- 6 Isnansetyo A., Dwi Jayanti A., Wahyu Kartika Sari D., Dewi Puspita I. et al. Modification of the Physical Properties of Alginate with the Addition of Polymannuronate and Polyguluronate. *E3S Web of Conferences*. EDP Sciences, 2020. vol. 147. pp. 03005. doi: 10.1051/e3sconf/202014703005
- 7 Deb-Choudhury S., Cooney J., Brewster D., Clerens S. et al. The effects of blanching on composition and modification of proteins in navy beans (*Phaseolus vulgaris*). *Food Chemistry*. 2021. vol. 346. pp. 128950. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.128950
- 8 Gorlov I.F., Titov E.I., Semenov G.V., Slozhenkina M.I. et al. Collagen from porcine skin: a method of extraction and structural properties. *International Journal of Food Properties*. 2018. vol. 21. no. 1. pp. 1031-1042. doi: 10.1080/10942912.2018.1466324
- 9 Titov E.I., Sokolov A.Yu., Litvinova E.V. et al. Dietary fibres in preventative meat products. *Foods & Raw Materials*. 2019. vol. 7. no. 2. pp. 387-395.
- 10 Imeson A. *Food stabilisers, thickeners and gelling agents*. Chichester: Wiley-Blackwell, 2010. vol. 34.
- 11 Tarté R. *Meat-derived protein ingredients. Ingredients in meat products*. Springer, New York, NY, 2009. pp. 145-171. doi: 10.1007/978-0-387-71327-4_7
- 12 Alipor M., Firouzi N., Aghazadeh Z. et al. The osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells in alginate-gelatin/Nano-hydroxyapatite microcapsules. *BMC biotechnology*. 2021. vol. 21. no. 1. pp. 1-12. doi: 10.1186/s12896-020-00666-3
- 13 Liang X., Ma C., Yan X., Zeng H. et al. Structure, rheology and functionality of whey protein emulsion gels: Effects of double cross-linking with transglutaminase and calcium ions. *Food Hydrocolloids*. 2020. vol. 102. pp. 105569. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105569
- 14 Fang X., Zhao X., Yu G. et al. Effect of molecular weight and pH on the self-assembly microstructural and emulsification of amphiphilic sodium alginate colloid particles. *Food Hydrocolloids*. 2020. vol. 103. pp. 105593. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105593
- 15 Evageliou V. Shear and extensional rheology of selected polysaccharides. *International Journal of Food Science & Technology*. 2020. vol. 55. no. 5. pp. 1853-1861. doi: 10.1111/ijfs.14545
- 16 Gila-Vilchez C., Bonhome-Espinosa A.B., Kuzhir P. et al. Rheology of magnetic alginate hydrogels. *Journal of Rheology*. 2018. vol. 62. no. 5. pp. 1083-1096. doi: 10.1122/1.5028137
- 17 Hu C., Lu W., Mata A., Nishinari K. et al. Ions-induced gelation of alginate: Mechanisms and applications // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021. vol. 177. pp. 578-588. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.02.086
- 18 Praseptianga D. *Development of seaweed-based biopolymers for edible films and lectins*. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. IOP Publishing, 2017. vol. 193. no. 1. pp. 012003.
- 19 Kontominas M.G. Use of Alginates as Food Packaging Materials. *Foods*. 2020. vol. 9. pp. 1440. doi: 10.3390/foods9101440
- 20 Chowdhury S., Chakraborty S., Maity M., Hasnain M.S. et al. Biocomposites of alginates in drug delivery. *Alginates in Drug Delivery*. 2020. pp. 153-185. doi: 10.1016/B978-0-12-817640-5.00007-8

Сведения об авторах

Александр Ю. Соколов к.т.н., доцент, кафедра ресторанного бизнеса, Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Стремянный пер., 36, г. Москва, 117997, Россия, sokolov.ay@rea.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-5433-6429>

Дарья И. Шишкина ассистент, кафедра ресторанного бизнеса, Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Стремянный пер., 36, г. Москва, 117997, Россия, shishkina.di@rea.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-0620-8465>

Вклад авторов

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about authors

Alexander Yu. Sokolov Cand. Sci. (Engin.), associate professor, restaurant business department, Plekhanov Russian University of Economics, Stremyanny lane, 36, Moscow, 117997, Russia, sokolov.ay@rea.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-5433-6429>

Darya I. Shishkina assistant, restaurant business department, Plekhanov Russian University of Economics, Stremyanny lane, 36, Moscow, 117997, Russia, shishkina.di@rea.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-0620-8465>

Contribution

All authors are equally involved in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Поступила 20/01/2021	После редакции 08/02/2021	Принята в печать 18/02/2021
Received 20/01/2021	Accepted in revised 08/02/2021	Accepted 18/02/2021