

Поиск новых эффективных антиоксидантов для импрегнирования товарных форм витамина А с целью кормления сельскохозяйственных животных

Татьяна К. Каленик	¹	kalenik.tk@dvfu.ru	 0000-0003-2807-3239
Тамара А. Сенотрусова	¹	senotrusova.tale@dvfu.ru	 0000-0003-0580-3235
Елена В. Добрынина	¹	dobrynina.ev@dvfu.ru	 0000-0002-9987-4685
Дарвиш Фади	¹	darvish.fa@dvfu.ru	 0000-0002-1796-3650
Людмила А. Текутьева	²	tekuteva.la@dvfu.ru	 0000-0003-0498-3764
Владислав В. Матвеев	³	act_like_you_know@icloud.com	 0000-0002-0629-317X

¹ Дальневосточный федеральный университет, о. Русский, п. Аякс, 10, г. Владивосток, 690922, Россия

² ООО «АРНИКА», Надеждинский муниципальный район, с. Вольно-Надеждинское, ТЕР «Надеждинская», 692481, Россия, Приморский край ул. Центральная, 42

³ FoRise Group, г. Москва. 452550, Россия, Большеустьикинское, ул. Центральная, 6

Аннотация. Согласно Указу Президента РФ от 21 января 2020 г. N 20 "Об утверждении Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации", основой для формирования национальной системы управления качеством пищевой и сельскохозяйственной продукции, основной целью которого является обеспечение качества продукции как важнейшей составляющей повышения уровня здоровья населения, повышение качества сельскохозяйственной продукции с помощью современных инновационных технологий и кормовых добавок, содействие и стимулирование роста спроса и предложения на более качественные пищевые продукты и обеспечение соблюдения прав потребителей на приобретение качественной продукции. Достижение целей Доктрины в области повышения уровня качества пищевых и кормовых продуктов предполагается реализовать с помощью некоторых задач, где одной из них является развитие в Российской Федерации производства пищевых добавок и ингредиентов, а также разработка и внедрение системы управления качеством сельскохозяйственной продукции и создание условий для производства продукции нового поколения с заданными характеристиками качества. В связи с этим, в данной работе рассматриваются оптимальные и экономичные методы экстракции красителя из цветков *Clitoria ternatea* с целью сокращения длительности производственного цикла и внедрения малоотходных технологий, что может исключить нерациональное использование сырья, приводить к увеличению выпуска продукции, понижению себестоимости готового продукта, увеличению экономических показателей производства, снижению антропогенного воздействия производства на окружающую среду. Также в работе разработана и описана современная технология производства красителя, по которой возможно совершенствовать систему мониторинга качества и безопасности. Рассмотрены перспективы применения красителя из цветков *Clitoria ternatea* в кормовых добавках для сельскохозяйственных животных и птиц. Это несомненно может вызывать интерес у предпринимательского сообщества, поэтому можно считать, что производство натурального красителя из растительного сырья и данная работа является достаточно актуальным предметом в рамках Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации не только с медико-биологической, но и с технологической стороны.

Ключевые слова: *Clitoria ternatea*, синий краситель, антиоксиданты, антоцианы, тернатины, дельфинидин, витамин А

Search for new effective antioxidants for impregnation of commercial forms of vitamin A for the purpose of feeding farm animals

Tatiana K. Kalenik	¹	kalenik.tk@dvfu.ru	 0000-0003-2807-3239
Tamara A. Senotrusova	¹	senotrusova.tale@dvfu.ru	 0000-0003-0580-3235
Elena V. Dobrynina	¹	dobrynina.ev@dvfu.ru	 0000-0002-9987-4685
Darwish Fadi	¹	darvish.fa@dvfu.ru	 0000-0002-1796-3650
Lyudmila A. Tekutyeva	²	tekuteva.la@dvfu.ru	 0000-0003-0498-3764
Vladislav V. Matveev	³	act_like_you_know@icloud.com	 0000-0002-0629-317X

¹ Far Eastern Federal University, p. Ajax, 10, 690922, Russia

² ARNIKA LLC, Nadezhdinsky municipal district, Volno-Nadezhdinskoe village, Nadezhdinskaya ASEZ, 692481, Primorsky Krai st. Centralnaya, 42

³ FoRise Group, Moscow. 452550, Russia, Bolsheust'ikinskoe, st. Centralnaya, 6,

Для цитирования

Каленик Т.К., Сенотрусова Т.А., Добрынина Е.В., Фади Д., Текутьева Л.А., Матвеев В.В. Поиск новых эффективных антиоксидантов для импрегнирования товарных форм витамина А с целью кормления сельскохозяйственных животных // Вестник ВГУИТ. 2021. Т. 83. № 4. С. 131–141. doi:10.20914/2310-1202-2021-4-131-141

For citation

Kalenik T.K., Senotrusova T.A., Dobrynina E.V., Fadi D., Tekutyeva L.A., Matveev V.V. Search for new effective antioxidants for impregnation of commercial forms of vitamin A for the purpose of feeding farm animals. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2021. vol. 83. no. 4. pp. 131–141. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2021-4-131-141

Abstract. According to the Decree of the President of the Russian Federation of January 21, 2020 N 20 "On the approval of the Doctrine of food security of the Russian Federation", the basis for the formation of a national quality management system for food and agricultural products, the main goal of which is to ensure product quality as the most important component of improving health population, improving the quality of agricultural products with the help of modern innovative technologies and feed additives, promoting and stimulating the growth of demand and supply for better food products and ensuring the observance of consumer rights to purchase quality products. Achieving the goals of the Doctrine in the field of improving the quality of food and feed products is supposed to be realized with the help of some tasks, where one of them is the development of the production of food additives and ingredients in the Russian Federation, as well as the development and implementation of a quality management system for agricultural and food products and the creation of conditions for production of new generation products with specified quality characteristics. In this regard, this paper discusses the optimal and economical methods for extracting the dye from the flowers of *Clitoria ternatea* in order to reduce the duration of the production cycle and the introduction of low-waste technologies, which can exclude the irrational use of raw materials, lead to an increase in production, a decrease in the cost of the finished product, and an increase in economic production indicators, reducing the anthropogenic impact of production on the environment. Also, the work has developed and described a modern technology for the production of a dye, according to which it is possible to improve the quality and safety monitoring system. The prospects of using the dye from *Clitoria ternatea* flowers in feed additives for farm animals and birds are considered. This can undoubtedly be of interest to the business community, therefore, we can assume that the production of a natural dye from plant materials and this work is a fairly relevant subject within the framework of the Doctrine of Food Security of the Russian Federation, not only from the medico-biological, but also from the technological side.

Keywords: *Clitoria ternatea*, blue dye, antioxidants, anthocyanins, ternatines, delphinidin, vitamin A

Введение

Клитория (*Clitoria ternatea*) относится к семейству Бобовые, или Мотыльковые (*Fabaceae*), род *Clitoria* – вечнозелёное дикорастущее травянистое растение высотой 2–3 метра с ярко выраженным голубым или белым цветком, напоминающим раковину. Ареал вида занимает всю тропическую часть Азии. К общеупотребительным названиям *C. ternatea* можно отнести – *Butterfly Pea* (мотыльковый горошек) и *Pigeon Wings* (голубиные крылья). Тайское название растения – анчан. Под таким названием он поступает из Таиланда на российский рынок [2]. Пигмент цветков *C. ternatea* в восточно-азиатских странах используется в качестве пищевого красителя из-за своей высокой стабильности и необычной колористики [3].

Установлено, что роль в образовании голубого цвета играют различные антоцианы, где их основу составляют тернатины. Тернатины ацилированные антоцианы на основе антоцианидина дельфинидина. Обнаружены 6 основных тернатинов: тернатин A1, тернатин A2, тернатин B1, тернатин B2, тернатин D1, тернатин D2. Все они были охарактеризованы как дельфинидин-3,3,5-тригликозиды, имеющие 3,5-сторонние цепи с D-глюкозой и пара-кумаровой кислотой (рисунок 1) [4].

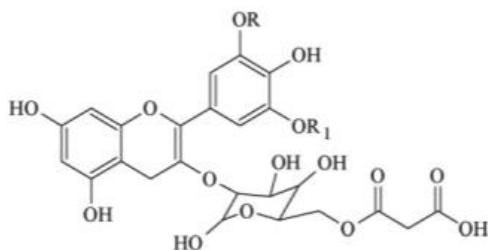


Рисунок 1. Дельфинидин-3,3',5'-тригликозид с посторонними цепями

Figure 1. Delphinidin-3,3',5'-triglycoside with extraneous chains

Кроме тернатинов в цветках был обнаружен кемпферол (антиоксидант) и его производные кемпферол-3-неогесперидозид, кемпферол-3-рутинозид, кемпферол-3-гликозид. Кверцетин (антиоксидант) и его производные кверцетин-3-неогесперидозид, кверцетин-3-рутинозид, кверцетин-3-гликозид, мирицетин-3-неогесперидозид (производные антиоксидантов), мирицетин-3-рутинозид и мирицетин-3-гликозид также были идентифицированы и выделены из цветков *C. ternatea*.

С помощью жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрией были дополнительно обнаружены другие антоцианы (таблица 1) [5].

Из всех антоцианов, отображенных в таблице, наибольшую часть составляют тернатины – они определены как большие антоциановые группы в цветках *C. ternatea*.

C. ternatea широко обследовалась на предмет различных фармакологических активностей [6]. В индийской медицине экспериментально доказано, что *C. ternatea* повышает содержание ацетилхолина в организме человека, действует как ноотроп, анксиолитик, антидепрессант, оказывает противосудорожное действие, что оправдывает его использование при заболеваниях центральной нервной системы [7]. Зарегистрировано, что *C. ternatea* также оказывает антимикробное, жаропонижающее, противовоспалительное, местное анестезирующее, мочегонное, противодиабетическое, инсектицидное действия, а также ингибирующее агрегацию тромбоцитов [8].

Продление периода хранения и уровня стабильности в процессе хранения является важным для производителей кормовых добавок, поскольку многие компоненты, входящие в кормовые добавки, являются весьма неустойчивыми к воздействию факторов окружающей среды.

Таблица 1.

Антоцианы, идентифицированные в экстракте с помощью жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией

Table 1.

Anthocyanins identified in the extract by liquid chromatography with tandem mass spectroscopy

Соединение Compound	Химическая формула Chemical formula	Молекулярная масса Molecular mass
Тернатин В ₁ Ternatin B1	C ₉₀ H ₉₇ O ₄₈	1945
Тернатин В ₂ Ternatin B2	C ₇₅ H ₈₁ O ₄₁	1637
Тернатин С ₁ Ternatin C1	C ₆₀ H ₆₅ O ₃₄	1329
Тернатин D ₁ Ternatin D1	C ₈₄ H ₈₇ O ₄₃	1783
Тернатин D ₂ Ternatin D2	C ₆₉ H ₇₁ O ₃₆	1475
Дельфинидин-3-гликозид Delphinidin-3-glucoside	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₇	627
Дельфинидин Delphinidin	C ₁₅ H ₁₁ O ₇	303
Пеонидин-3-О-гликозид Peonidin-3-o-glucoside	C ₂₈ H ₃₃ O ₁₆	625
Пеонидин-3-самбубиозид Peonidin-3-sambubioside	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅	595
3-О-β-D-гликозид-5-О-(6-кумарил-β-D-гликозид) 3-O-β-D-glucoside-5-O-(6-coumarin-β-D-glucoside)	C ₃₆ H ₃₇ O ₁₈	757
Цианидин-3-(6''-каффеил-2'''-синапилсамбубиозид)-5-(6-малонилгликозид) Cyanidin-3-(6''-caffeyl-2'''-sinapilsambubioside)-5-(6-malonylglucoside)	C ₅₅ H ₃₇ O ₃₀	1177
Цианидин-3-О-[2-О-(6-О-Е-кумарил-β-D-гликопиранозил)]- {6-О-[4-О-(6-О-Е-кумарил-β-D-гликопиранозил)-Е-каффеил]- β-D-гликопиранозил}-5-О-β-D-гликопиранозид Cyanidin-3-O-[2-O-(6-OE-coumaril-β-D-glycopyranosyl)]- {6-O-[4-O-(6-OE-coumaril-β-D-glycopyranosyl)-E-caffeyl]- β-D-glycopyranosyl}-5-O-β-D-glycopyranoside	C ₆₆ H ₆₉ O ₃₃	1389

Известно, что витамин А (полностью транс-ретинол), его активные производные ретиноль и ретиноевая кислота, а также их синтетические аналоги составляют группу ретиноидов. Его получают с пищей, кормом либо в виде предварительно сформированного витамина А, либо в виде каротиноидов. Ретиноль играет биологическую роль для зрительной системы, но большинство эффектов витамина А осуществляется ретиноевой кислотой, которая связывается с ядерными рецепторами и регулирует транскрипцию генов.

Известно, что витамин А оказывает несколько плеiotропных эффектов на дифференцировку клеток и эмбриогенез. Ретиноевая кислота и ее предшественник ретинол, как известно, участвуют в поддержании, дифференцировке и функции многих эпителиальных тканей.

Дефицит витамина А в рационе сельскохозяйственных животных и птиц является важной проблемой в настоящее время, особенно в развивающихся странах. Ретинол и каротиноиды из рациона во время беременности и кормления грудью влияют на их концентрацию в грудном молоке, что в долгосрочной перспективе важно не только для потомства, но и для здоровья матери [9].

Цель работы – выбрать оптимальный и экономичный метод извлечения красителя из цветков *C. ternatea* с целью сокращения длительности производственного цикла и внедрения малоотходных технологий, а также изучение

влияния экстракта цветков *C. ternatea* на микробиологические показатели микрокапсулированного кормового витамина А в процессе хранения.

Материалы и методы

Метод определения зависимости цвета водного экстракта *C. ternatea* от активной кислотности раствора заключается в определении длины волны, соответствующей максимуму поглощения раствора анализируемого красителя. Для этого 1 г порошкообразной *C. ternatea* пересыпали в коническую колбу объемом 500 см³ и добавляли 300 см³ дистиллированной воды. Нагревали на водном термостате в течение 40–45 мин в диапазоне температур от 60 до 65 °С. После окончания экстракции полученную жидкость фильтровали, а шрот отправляли на прессование. Отжатую жидкость смешивали с первоначальной и отправляли на вторичное фильтрование. Полученный экстракт оставляли на хранение. Далее водный экстракт перелили в 13 колб объемом 50 см³ по 20 см³ каждый. В каждой колбе создали собственный рН от 1 до 13. Для регистрирования значения активной кислотности пользовались рН-метром со стеклянным электродом.

Получившиеся растворы дозировали пипеткой в кюветы спектрофотометра, имеющие рабочую длину 1 см. Регистрировали спектр поглощения относительно оптической плотности дистиллированной воды (раствор сравнения)

в диапазоне длин волн от 400 нм до 700 нм в соответствии с инструкцией по эксплуатации спектрофотометра Shimadzu UV-1800 (Япония).

Полученные спектральные графики были анализированы и расшифрованы, составлена колористика.

Экстракт высушивали при 50 °С на ротном испарителе. Чтобы получить водный экстракт к 10 мг высушенного экстракта добавляли 100 мл дистиллированной воды (10 мг/100 мл).

Микробиологические показатели безопасности определяли стандартным методом. Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) определяли по ГОСТ 10444.15–94 [11]. Наличие дрожжей и плесневых грибов определяли по 14. ГОСТ 10444.12–2013 [12].

Результаты

Базовые режимы экстракции были определены из трёх разных научных трудов по экстракции пигментов из *C. ternatea* (таблица 2).

I метод извлечения описывал холодную экстракцию антоцианов. Для этого 10 г. порошка *C. ternatea* замачивали в 100 мл воды и оставляли на 24 часа при 25 °С (гидро модуль 1:10) [12].

II метод описывал тёплую экстракцию антоцианов при температуре 54 °С. Для этого 2,7 г порошка *C. ternatea* замачивали в 100 мл воды (гидро модуль 1:37) и оставляли экстрагироваться в термостате на 74 мин при 54 °С [13].

III метод описывал горячую экстракцию антоцианов при температуре 59,6 °С. Для этого 0,3 г порошка *C. ternatea* замачивали в 100 мл воды (гидро модуль 1:333) и оставляли экстрагироваться в термостате на 37 мин при 59,6 °С [14].

Таблица 2.

Базовые режимы экстракции цветков

Table 2.

Basic Flower Extraction Modes

Показатели Indicators	I метод Method I	II метод Method II	III метод Method III
Температура экстрагирования, °С Extraction temperature, °C	25	54	59,6
Время экстрагирования, мин Extraction time, min	1440	74	37
Значение Гидро модуля Hydro module value	1:10	1:37	1:333
Содержание сухих веществ, г Dry matter content, gr	5,643	1,578	0,184
Выход пигмента η , % Pigment yield η , %	56,43	58,4	61,3

Данные таблицы показывают, что из предложенных методов извлечения пигментов – горячая экстракция (III метод) является самой эффективной (по времени, гидро модулю и выходу продукта). С помощью алгебраических подсчетов был выявлен собственный наиболее

оптимальный гидро модуль (1:300), оптимальный временной промежуток (40–45 мин), а экспериментально была определена оптимальная температура экстракции. Диапазон температур от 35 до 80 °С.

Таблица 3.

Определение оптимального температурного режима

Table 3.

Determination of the optimal temperature regime

Показатель Indicators	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Температура экстрагирования, °С Extraction temperature, °C	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80
Содержание сухих веществ, г Dry matter content, gr	0,566	0,625	0,649	0,634	0,645	0,651	0,667	0,656	0,615	0,581
Выход пигмента η , % Pigment yield η , %	56,6	62,5	64,9	63,4	64,5	65,1	66,7	65,6	61,5	58,1

Для более удобной оценки результатов данные представлены в виде точечной диаграммы на рисунке 2.

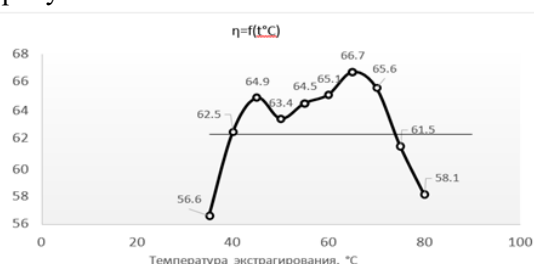


Рисунок 2. Зависимость выхода пигмента от температур в диапазоне от 35 до 80 °С

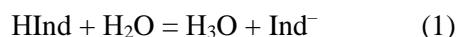
Figure 2. Dependence of the pigment yield on temperatures in the range from 35 to 80 °C

Влияние активной кислотности (pH) наблюдали путем добавления концентрированных растворов кислот и щелочей в свежеприготовленный экстракт цветков *C. ternatea*, выработанный по режиму экстракции с оптимальными технологическими параметрами.

Смена окраски антоцианов связана с ионным механизмом Оствальда. Оствальд предполагал, что антоцианы являются кислотно-основными индикаторами, а, следовательно, являются слабыми кислотами или слабыми основаниями, которые способны диссоциироваться в водных растворах. При этом наблюдается образование равновесия ионизированных форм (щелочная среда) и протонированных (молекулярных) форм

(кислая среда). В зависимости от соотношения последних и наблюдается определенная окраска в растворе. В результате изменения значения водородного показателя происходит смещение равновесия диссоциации антоциана, и, как следствие, изменение его окраски.

Дельфинидин-3-гликозид, содержащийся в экстракте, является слабой кислотой, так как отвечает уравнению диссоциации (1):



где HInd (протонированная форма антоциана) – цвет красный; Ind⁻ (ионизированная форма антоциана) – цвет синий.

В кислой среде (pH < 7) равновесие смещается влево, в сторону кислой формы HInd. В щелочной среде (pH > 7) равновесие смещается вправо, в сторону основной формы Ind⁻. При pH = 1–3 антоцианидин существует в молекулярной форме. При pH = 4–5 происходит присоединение гидроксид-иона с образованием псевдооснования. При повышении pH до значений 6–7 отщепляется вода и образуется хиноидная форма. Наконец, при pH = 8–9 хиноидная форма гидролизует с разрывом цикла и образованием халкона. Ниже представлены спектральные графики экстрактов цветков *C. ternatea*.

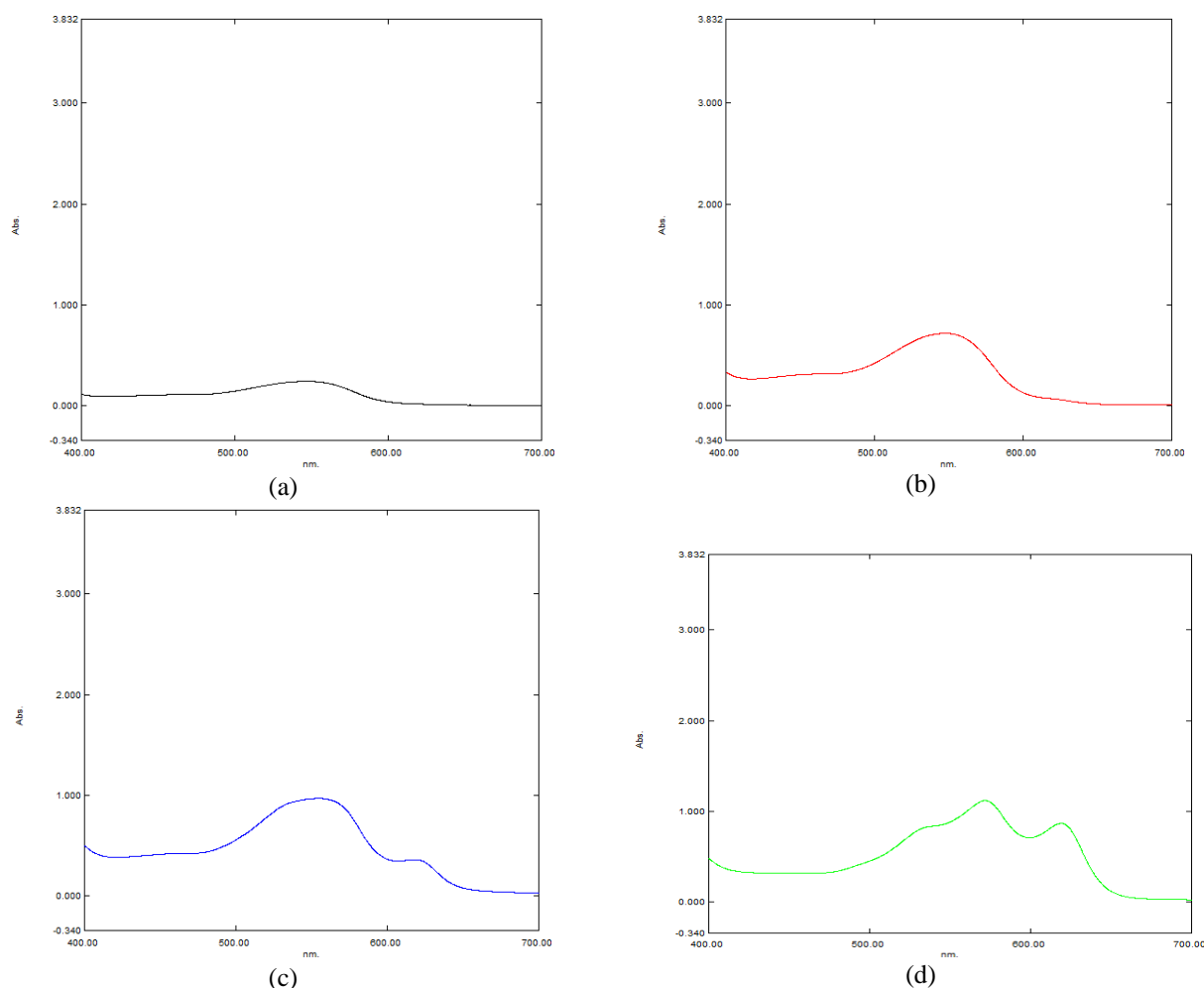


Рисунок 3. Спектр поглощения экстракта цветков при (a) pH = 1; pH = 2 (b); (c) pH = 3; (d) pH = 4

Figure 3. Absorption spectrum of flower extract at (a) pH = 1; pH = 2 (b); (c) pH = 3; (d) pH = 4

На спектральном графике (рисунок 3a) заметно, что пик достаточно «смазан», трудно определить значение пика оптической плотности и длины волны. Это говорит о том, что преобладает протонированная форма дельфинидина, которая считается достаточно неустойчивой. Образование ионизированной формы подавлено.

На спектральном графике (рисунок 3b) пик менее «смазан». Можно определить четкое значение оптической плотности. Равновесие

«готовится» сместиться в сторону ионизированной формы.

На спектральном графике (рисунок 3c) наблюдается bathochromic shift (сдвиг максимума поглощения в красную сторону) из 548 nm в 555 nm. Происходит ионизация антоциана; второй пик с длиной волны в 618 nm характеризует ионизированную форму дельфинидина. Равновесие смещается в правую сторону, доля протонированной формы начинает падать.

На спектральном графике (рисунок 3д) продолжается батохромный сдвиг в красную область (из 555 нм в 572 нм). Четко видно два пика и плечо, наблюдаемое в синей области. Появляется промежуточная форма. Доля протонированной формы продолжает падать.

На спектральном графике (рисунок 4а) заметно, что достигается равновесие между протонированной и ионизированной формой антоциана. Начало образования стабильной формы антоциана.

На спектральном графике (рисунок 4б) наблюдается образование стабильной и устойчивой формы антоциана. Батохромного сдвига не наблюдалось.

На спектральном графике (рисунок 4в) наблюдается резкое повышение доли ионизированной формы антоциана с батохромным сдвигом. Первый пик начинает «смазываться». Образование протонированной формы подавлено. Это устойчивая форма антоциана.

На спектральном графике (рисунок 4г) первый пик полностью редуцируется. Это говорит

о том, что при таком значении pH преобладает ионизированная форма. Наблюдается полный батохромный сдвиг

На спектральном графике (рисунок 5а) пик уплотняется, дополнительного батохромного сдвига не наблюдается. Преобладает ионизированная форма.

На спектральном графике (рисунок 5б) в синей области (ближе к ультрафиолетовой) наблюдается резкое повышение значения оптической плотности. Пик постепенно «смазывается». На спектральном графике (рисунок 6а) наблюдается дальнейшее «смазывание» пика. Это говорит о деградации ионизированной формы антоциана и ее разрушении, вследствие повышенной щелочности среды.

На спектральных графиках (рисунок 6б и 6в) показано полное разрушение ионной формы антоциана. При pH = 13 пик полностью «смазывается».

Для итогового понимания зависимости цветового параметра от кислотности раствора составлена таблица 4, отражающая колористику экстрактов.

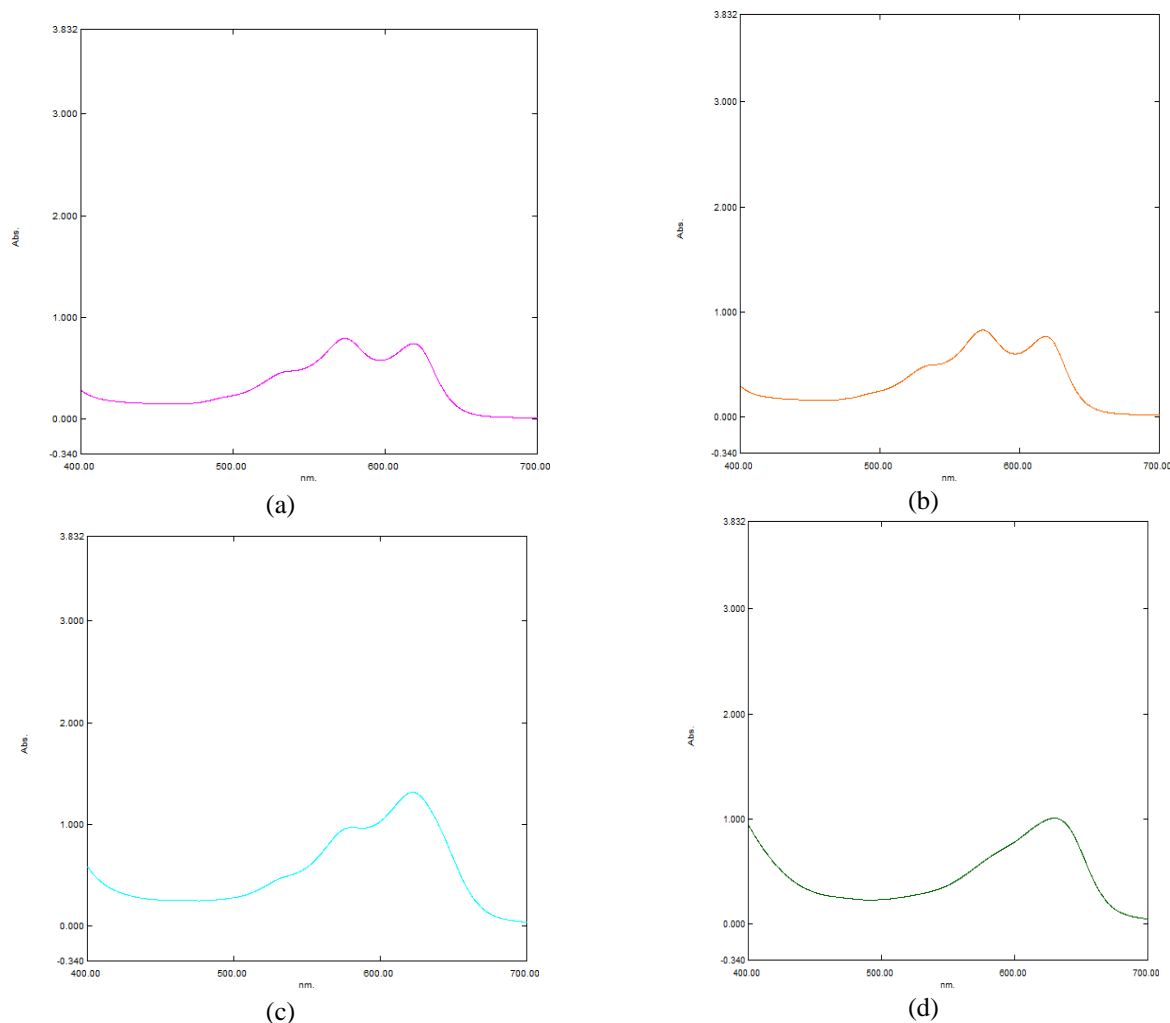
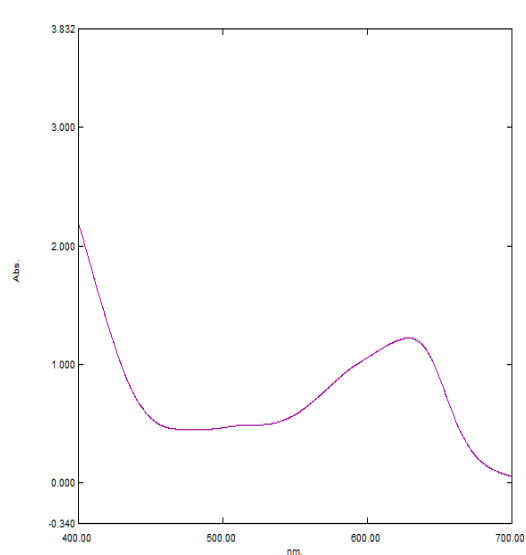
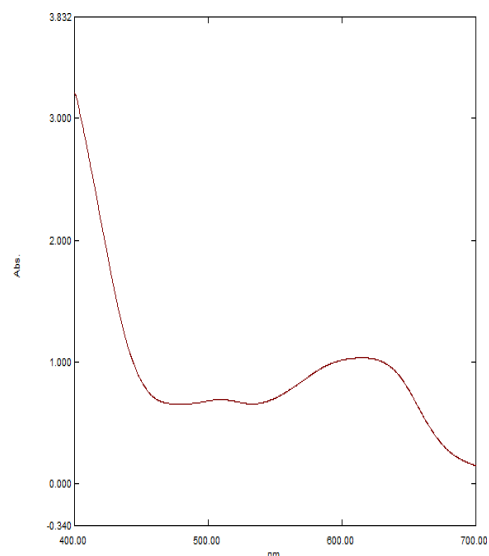


Рисунок 4. Спектр поглощения экстракта цветков при (а) pH = 5; (б) pH = 6; (с) pH = 7; (д) pH = 7

Figure 4. Absorption spectrum of flower extract at (a) pH = 5; (b) pH = 6; (c) pH = 7; (d) pH = 7



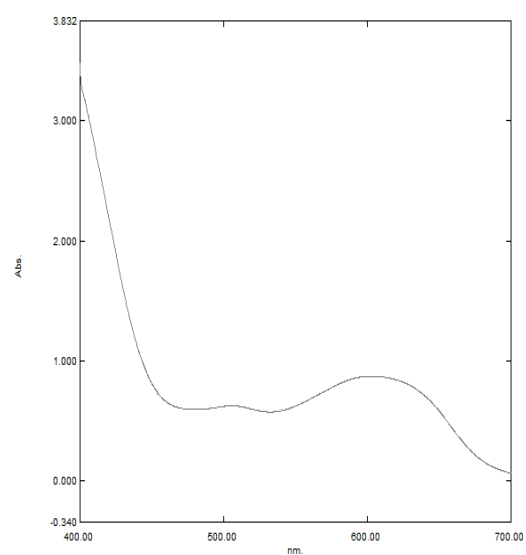
(a)



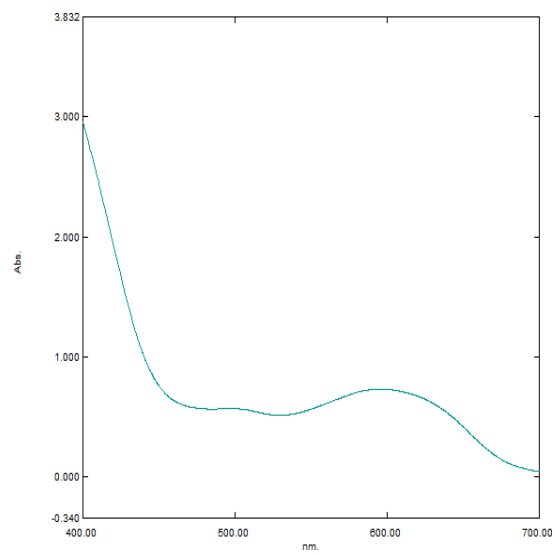
(b)

Рисунок 5. Спектр поглощения экстракта цветков при (a) pH = 9; (b) pH = 10

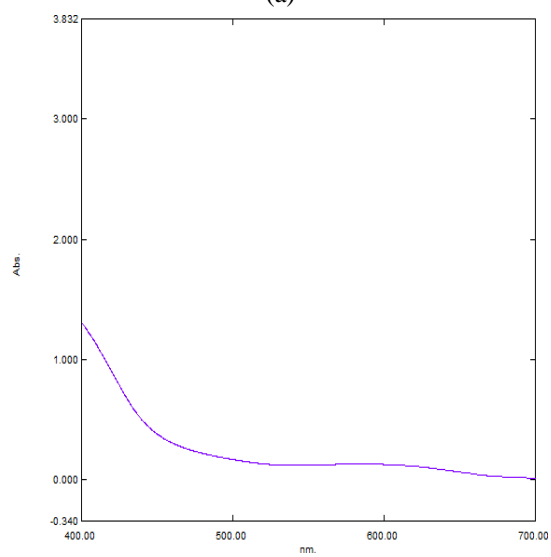
Figure 5. Absorption spectrum of flower extract at (a) pH = 9; (b) pH = 10



(a)



(b)



(c)

Рисунок 6. Спектр поглощения экстракта цветков при (a) pH = 11; (b) pH = 12; (c) pH = 13

Figure 6. Absorption spectrum of flower extract at (a) pH = 11; (b) pH = 12; (c) pH = 13

Таблица 4.

Зависимость цветового параметра экстракта от активной кислотности раствора

Table 4.

Dependence of the color parameter of the extract on the active acidity of the solution

Проба Sample	pH	λ , нм (I пик) λ , nm (I peak)	λ , нм (II пик) λ , nm (II peak)	Цвет экстракта Color of extract	Примечание* Note*
I	1,0	548	-	Светло-розовый Light pink	I пик «смазан» I peak is "blurred"
II	2,0	548	-	Пурпурный Purple	I пик менее «смазан» I peak is less "blurred"
III	3,0	555	618	Светло-Фиолетовый Light purple	II пик в виде плеча II peak in the form of a shoulder
IV	4,0	572	619	Темно-Фиолетовый Dark – purple	I и II пик хорошо выражены I and II peaks are well pronounced
V	5,0	574	619	Синий Blue	
VI	6,0	574	619	Темный индиго Dark indigo	
VII	7,0	581	622	Насыщенный ярко-синий Saturated bright blue	I пик в виде плеча I peak in the form of a shoulder
VIII	8,0	–	630	Изумрудный Emerald	I пик редуцируется I peak is reduced
IX	9,0		629	Темно-зеленый Dark green	I пик редуцируется I peak is reduced
X	10,0		613	Зеленый Green	II пик «смазан» II peak is "blurred"
XI	11,0		601	Светло-зеленый Light green	II пик «смазан» II peak is "blurred"
XII	12,0		601	Болотный Swamp	II пик редуцируется II peak is reduced
XIII	13,0		–	Желто-зеленый Yellow green	II пик редуцируется II peak is reduced

*(I пик – протонированная форма, II пик – ионная форма)

*(I peak – protonated form, II peak – ionic form)

Анализ экстрактов цветков при разных значениях водородного показателя на спектрофотометре показал, что антоцианы могут принимать различные формы. Наиболее стабильной и биодоступной формой для человека является ионизированная форма дельфинидина. Протонированная форма является сравнительно неустойчивой и в кишечнике человека всасывается в несколько раз хуже. Поэтому очень важно при использовании экстракта в качестве натурального красителя соблюдать его pH. С помощью исследований, проведенных с помощью спектрофотометра, было

выявлено оптимальное значение водородного показателя антоциана дельфинидина, который равен диапазону от 4,5 до 7,5.

Определив оптимальные параметры получения экстракта цветков *C. ternatea*, далее изучили его влияние на процесс хранения микрокапсулированного кормового витамина А. В таблице 5 показана влияние добавления экстракта цветков *C. ternatea* на изменение микробиологических показателей микрокапсулированного витамина А при хранении, 6 месяцев.

Таблица 5.

Микробиологические показатели микрокапсулированного витамина А при хранении, 6 месяцев

Table 5.

Microbiological indicators of microencapsulated vitamin A during storage, 6 months

Показатель Indicator	Месяц Month	1	2	3	4	5	6
ОЧГ, КОЕ/г, не более: без экстракта цветков <i>C. ternatea</i> ОЧГ, CFU / g, no more: without extract of flowers of <i>C. ternatea</i>		1,4x10 ²	1,6x10 ²	1,8x10 ²	2,1x10 ²	2,5x10 ²	2,8x10 ²
ОЧГ, КОЕ/г, не более: с экстрактом цветков <i>C. ternatea</i> ОЧГ, CFU / g, no more: with extract of flowers of <i>C. ternatea</i>		1,2x10 ²	1,2x10 ²	1,4x10 ²	1,8x10 ²	2,1x10 ²	2,5x10 ²
ОМЧ, КОЕ/г, не более: без экстракта цветков <i>C. ternatea</i> ОМЧ, CFU / g, no more: without extract of flowers of <i>C. ternatea</i>		1x10 ³	1,6x10 ³	1,8x10 ³	2,1x10 ³	3,2x10 ³	4,3x10 ³
ОМЧ, КОЕ/г, не более: с экстрактом цветков <i>C. ternatea</i> ОМЧ, CFU / g, no more: with an extract of flowers of <i>C. ternatea</i>		1x10 ³	1,2x10 ³	1,4x10 ³	1,6x10 ³	2,4x10 ³	2,6x10 ³

Из таблицы можно отметить, что наименьшее значение общего числа грибов и общего микробного числа было в образце, содержащем экстракт цветков *C. ternatea* в концентрации 10 мг/100 мл, в то время как наибольшее количество было отмечено в образце без экстракта цветков *C. ternatea* при хранении, 6 месяцев. Результаты показали, что экстракт уменьшил рост микроорганизмов. Это связано с тем, что экстракт обладает высоким содержанием биологически активных веществ, обладающих антимикробной активностью.

Заключение

Выбран наиболее оптимальный метод экстракции пигмента цветков *C. ternatea* и экспериментально подобраны наиболее экономичные технологические параметры. Выявлено, что оптимальный режим экстракции антоцианов цветков *C. ternatea* составляет при гидромодуле 1:300, температурном диапазоне 60–65 °С, временном промежутке 40–45 мин. Исследовано влияние активной кислотности (рН) на изменение цвета экстракта, полученного из *C. ternatea*. Установлено, что при добавлении красителя в сильнокислотные или сильнощелочные пищевые системы происходит деградация антоцианов и изменение цвета. Выявлен диапазон оптимального значения рН (от 4,5 до 7,5).

Описаны и расшифрованы спектры поглощения экстрактов *C. ternatea* при разных значениях рН. Спектральные графики помогли объяснить и понять процессы деградации антоцианов при разных значениях водородного показателя, что безусловно имеет значение при моделировании технологических процессов производства.

Изучено влияние экстракта цветков *C. ternatea* на микробиологические показатели безопасности микрокапсулированного кормового витамина А. Из полученных результатов следует, что снижение активности развития микроорганизмов связано с содержанием в экстракте цветков *C. ternatea* биологически активных веществ, обладающих антимикробной активностью.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках реализации комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства, предусмотренного постановлением Правительства Российской Федерации от 9 апреля 2010 г. № 218. Проект «Разработка промышленной технологии и организация в Дальневосточном федеральном округе высокотехнологичного производства кормового витамина А повышенной стабильности и биодоступности», соглашение № 075–11–2021–065 от 25 июня 2021 г.

Литература

- 1 Об утверждении Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации: указ Президента РФ от 21 января 2020 г. № 20.
- 2 Shamnad J. Mineral and nutritional potential of *Clitoria ternatea* L. variants as forage // Journal of Tropical Agriculture. 2020. V. 57. №. 2.
- 3 Adhikary R., Sultana S., Bishayi B. *Clitoria ternatea* flower petals: Effect on TNFR1 neutralization via downregulation of synovial matrix metalloproteases // Journal of Ethnopharmacology. 2018. № 210. P.209–222. doi: 10.1016/j.jep.2017.08.017
- 4 Thuy N.M., Minh V.Q., Ben, T.C., Thi Nguyen M.T. et al. Identification of Anthocyanin Compounds in Butterfly Pea Flowers (*Clitoria ternatea* L.) by Ultra Performance Liquid Chromatography/Ultraviolet Coupled to Mass Spectrometry // Molecules. 2021. V. 26. №. 15. P. 4539. doi: 10.3390/molecules26154539
- 5 Ahmad N.A., Yook Heng L., Salam F., Mat Zaid M.H. et al. A Colorimetric pH Sensor Based on *Clitoria* sp and *Brassica* sp for Monitoring of Food Spoilage Using Chromametry // Sensors MDPI. 2019. № 19(21). P.4813. doi: 10.3390/s19214813
- 6 Rao A.S., Shobha K.L., Md'Almeida P., Rai K.S. In vitro antimicrobial activity of root extract of *Clitoria ternatea* // Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2017. V. 10. №. 11. P. 52–54. doi: 10.22159/ajpcr.2017.v10i11.19992
- 7 Raghu K.S., Shamprasad B.R., Kabekkodu S.P., Paladhi P. et al. Age dependent neuroprotective effects of medhya rasayana prepared from *Clitoria ternatea* Linn in stress induced rat brain // Journal of ethnopharmacology. 2017. № 197. P.173–183. doi: 10.1016/j.jep.2016.07.068
- 8 Chayaratanasin P., Barbieri M.A., Suanpairintr, N., Adisakwattana S. Inhibitory effect of *Clitoria ternatea* flower petal extract on fructose-induced protein glycation and oxidation-dependent damages to albumin in vitro // BMC Complement & Alternative Medicine. 2015. № 15. P.27–32. doi: 10.1186/s12906-015-0546-2
- 9 Cabezuolo M.T., Zaragoza R., Barber T., Viña J.R. Role of vitamin A in mammary gland development and lactation // Nutrients. 2020. V. 12. №. 1. P. 80. doi: 10.3390/nu12010080
- 10 ГОСТ 10444.15–94. Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.
- 11 ГОСТ 10444.12–2013. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов.
- 12 Rocha R., Pinela J., Abreu R., Añibarro-Ortega M. et al. Extraction of Anthocyanins from Red Raspberry for Natural Food Colorants Development: Processes Optimization and in vitro Bioactivity // Processes. 2020. V. 8. №. 11. P. 1447. doi: 10.3390/pr8111447


- 13 Baskaran A., Mudalib S. K. A., Izirwan I. Optimization of aqueous extraction of blue dye from butterfly pea flower // *Journal of Physics: Conference Series*. IOP Publishing, 2019. V. 1358. №. 1. P. 012001.
- 14 Lakshan S.A.T., Jayanath N.Y., Abeysekera W.P.K.M., Abeysekera W.K.S.M. A commercial potential blue pea (*Clitoria ternatea* L.) flower extract incorporated beverage having functional properties // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2019. V. 2019. doi: 10.1155/2019/2916914
- 15 McDowell L.R. Vitamins in animal nutrition: comparative aspects to human nutrition. Elsevier, 2012.
- 16 Salami S.A., Guinguina A., Agboola J.O., Omede A.A. et al. In vivo and postmortem effects of feed antioxidants in livestock: a review of the implications on authorization of antioxidant feed additives // *Animal*. 2016. V. 10. №. 8. P. 1375-1390.
- 17 Kafantaris I., Kotsampasi B., Christodoulou V., Kokka E. et al. Grape pomace improves antioxidant capacity and faecal microflora of lambs // *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2017. V. 101. №. 5. P. e108-e121. doi: 10.1111/jpn.12569
- 18 Mirzaei-Aghsaghal A. Importance of medical herbs in animal feeding: A review // *Ann. Biol. Res.* 2012. V. 3. №. 9. P. 3-933.
- 19 Celi P., Gabai G. Oxidant/antioxidant balance in animal nutrition and health: the role of protein oxidation // *Frontiers in Veterinary Science*. 2015. V. 2. P. 48. doi: 10.3389/fvets.2015.00048
- 20 Błaszczuk A., Augustyniak A., Skolimowski J. Ethoxyquin: an antioxidant used in animal feed // *International journal of food science*. 2013. V. 2013. doi: 10.1155/2013/585931

References


- 1 On the approval of the Food Security Doctrine of the Russian Federation: Decree of the President of the Russian Federation of January 21, 2020 No. 20. (in Russian).
- 2 Shannad J. Mineral and nutritional potential of *Clitoria ternatea* L. variants as forage. *Journal of Tropical Agriculture*. 2020. vol. 57. no. 2.
- 3 Adhikary R., Sultana S., Bishayi B. *Clitoria ternatea* flower petals: Effect on TNFR1 neutralization via downregulation of synovial matrix metalloproteinases. *Journal of Ethnopharmacology*. 2018. no. 210. pp. 209–222. doi: 10.1016/j.jep.2017.08.017
- 4 Thuy N.M., Minh V.Q., Ben, T.C., Thi Nguyen M.T. et al. Identification of Anthocyanin Compounds in Butterfly Pea Flowers (*Clitoria ternatea* L.) by Ultra Performance Liquid Chromatography/Ultraviolet Coupled to Mass Spectrometry. *Molecules*. 2021. vol. 26. no. 15. pp. 4539. doi: 10.3390/molecules26154539
- 5 Ahmad N.A., Yook Heng L., Salam F., Mat Zaid M.H. et al. A Colorimetric pH Sensor Based on *Clitoria* sp and Brassica sp for Monitoring of Food Spoilage Using Chromametry. *Sensors MDPI*. 2019. no. 19(21). pp. 4813. doi: 10.3390/s19214813
- 6 Rao A.S., Shobha K.L., Md'Almeida P., Rai K.S. In vitro antimicrobial activity of root extract of *Clitoria ternatea*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017. vol. 10. no. 11. pp. 52–54. doi: 10.22159/ajpcr.2017.v10i11.19992
- 7 Raghu K.S., Shamprasad B.R., Kabekkodu S.P., Paladhi P. et al. Age dependent neuroprotective effects of medhya rasayana prepared from *Clitoria ternatea* Linn in stress induced rat brain. *Journal of ethnopharmacology*. 2017. no. 197. pp. 173–183. doi: 10.1016/j.jep.2016.07.068
- 8 Chayaratanasin P., Barbieri M.A., Suanpairintr, N., Adisakwattana S. Inhibitory effect of *Clitoria ternatea* flower petal extract on fructose-induced protein glycation and oxidation-dependent damages to albumin in vitro. *BMC Complement & Alternative Medicine*. 2015. no. 15. pp. 27–32. doi: 10.1186/s12906-015-0546-2
- 9 Cabezuelo M.T., Zaragoza R., Barber T., Viña J.R. Role of vitamin A in mammary gland development and lactation. *Nutrients*. 2020. vol. 12. no. 1. pp. 80. doi: 10.3390/nu12010080
- 10 GOST 10444.15–94. Food products. Methods for determining the number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms. (in Russian).
- 11 GOST 10444.12–2013. Microbiology of food and animal feed. Methods for detecting and counting the amount of yeast and molds. (in Russian).
- 12 Rocha R., Pinela J., Abreu R., Añibarro-Ortega M. et al. Extraction of Anthocyanins from Red Raspberry for Natural Food Colorants Development: Processes Optimization and in vitro Bioactivity. *Processes*. 2020. vol. 8. no. 11. pp. 1447. doi: 10.3390/pr8111447
- 13 Baskaran A., Mudalib S. K. A., Izirwan I. Optimization of aqueous extraction of blue dye from butterfly pea flower. *Journal of Physics: Conference Series*. IOP Publishing, 2019. vol. 1358. no. 1. pp. 012001.
- 14 Lakshan S.A.T., Jayanath N.Y., Abeysekera W.P.K.M., Abeysekera W.K.S.M. A commercial potential blue pea (*Clitoria ternatea* L.) flower extract incorporated beverage having functional properties. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2019. vol. 2019. doi: 10.1155/2019/2916914
- 15 McDowell L.R. Vitamins in animal nutrition: comparative aspects to human nutrition. Elsevier, 2012.
- 16 Salami S.A., Guinguina A., Agboola J.O., Omede A.A. et al. In vivo and postmortem effects of feed antioxidants in livestock: a review of the implications on authorization of antioxidant feed additives. *Animal*. 2016. vol. 10. no. 8. pp. 1375-1390.
- 17 Kafantaris I., Kotsampasi B., Christodoulou V., Kokka E. et al. Grape pomace improves antioxidant capacity and faecal microflora of lambs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2017. vol. 101. no. 5. pp. e108-e121. doi: 10.1111/jpn.12569
- 18 Mirzaei-Aghsaghal A. Importance of medical herbs in animal feeding: A review. *Ann. Biol. Res.* 2012. vol. 3. no. 9. pp. 3-933.
- 19 Celi P., Gabai G. Oxidant/antioxidant balance in animal nutrition and health: the role of protein oxidation. *Frontiers in Veterinary Science*. 2015. vol. 2. pp. 48. doi: 10.3389/fvets.2015.00048
- 20 Błaszczuk A., Augustyniak A., Skolimowski J. Ethoxyquin: an antioxidant used in animal feed. *International journal of food science*. 2013. vol. 2013. doi: 10.1155/2013/585931

Сведения об авторах


Татьяна К. Каленик д.б.н., профессор, департамент пищевых наук и биотехнологий, Дальневосточный федеральный университет, о. Русский, п. Аякс, 10, г. Владивосток, 690922, Россия, kalenik.tk@dvfu.ru

 <https://orcid.org/0000-0003-2807-3239>


Тамара А. Сенотрусова к.т.н., департамент пищевых наук и биотехнологий, Дальневосточный федеральный университет, о. Русский, п. Аякс, 10, г. Владивосток, 690922, Россия, senotrusova.tale@dvfu.ru

 <https://orcid.org/0000-0003-0580-3235>


Елена В. Добрынина к.т.н., департамент пищевых наук и биотехнологий, Дальневосточный федеральный университет, о. Русский, п. Аякс, 10, г. Владивосток, 690922, Россия, dobrynina.ev@dvfu.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-9987-4685>


Дарвиш Фади аспирант, департамент пищевых наук и биотехнологий, Дальневосточный федеральный университет, о. Русский, п. Аякс, 10, г. Владивосток, 690922, Россия, darvish.fa@dvfu.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-1796-3650>

Людмила А. Текутьева к.т.н., профессор, генеральный директор ООО «АРНИКА», Надеждинский муниципальный район, с.Вольно-Надеждинское, ТОО «Надеждинская», 692481, Приморский край, tekuteva.la@dvfu.ru

 <https://orcid.org/0000-0003-0498-3764>

Владислав В.Матвеев младший специалист по развитию и исследованиям, FoRiseGroup, г. Москва. Россия, Большеустьикинское, ул. Центральная, 6, 452550, act_like_you_know@icloud.com

 <https://orcid.org/0000-0002-0629-317X>

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


Tatiana K. Kalenik Dr. Sci. (Biol.), professor, food sciences and technologies department, Far Eastern Federal University, Ajax, 10, Vladivostok, 690922, Russia, kalenik.tk@dvfu.ru

 <https://orcid.org/0000-0003-2807-3239>


Tamara A. Senotrusova Cand. Sci. (Engin.), food sciences and technologies department, Far Eastern Federal University, Ajax, 10, Vladivostok, 690922, Russia, senotrusova.tale@dvfu.ru

 <https://orcid.org/0000-0003-0580-3235>


Elena V. Dobrynina Cand. Sci. (Engin.), food sciences and technologies department, Far Eastern Federal University, Ajax, 10, Vladivostok, 690922, Russia, dobrynina.ev@dvfu.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-9987-4685>


Darwish Fadi postgraduate student, food sciences and biotechnology department, Far Eastern Federal University, Ajax, 10, Vladivostok, 690922, Russia, darvish.fa@dvfu.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-1796-3650>

Lyudmila A. Tekutyeva Cand. Sci. (Engin.), director LLC "ARNIKA", Nadezhdinsky municipal district, Volno-Nadezhdinskoe village, TOP "Nadezhdinskaya", 692481, Primorsky Territory, tekuteva.la@dvfu.ru

 <https://orcid.org/0000-0003-0498-3764>

Vladislav V. Matveev junior development and research specialist, FoRise Group), Moscow. Russia s, Bolsheust'kinskoe, st. Centralnaya, 6,452550, act_like_you_know@icloud.com

 <https://orcid.org/0000-0002-0629-317X>

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 05/10/2021	После редакции 01/11/2021	Принята в печать 20/11/2021
Received 05/10/2021	Accepted in revised 01/11/2021	Accepted 20/11/2021