

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ / BRIEF COMMUNICATION

Оригинальная статья / Original article

УДК 577.19

DOI: <http://dx.doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-3-147-152>

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И ОТНОСИТЕЛЬНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ ЛЕСПЕДЕЦЫ ДВУЦВЕТНОЙ И ПРОДУКТА С ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ

© А.А. Юферова*, О.В. Сахарова**, В.А. Смольяников*, Р.И. Живчикова***

*Дальневосточный федеральный университет,

690091, Российская Федерация, г. Владивосток, ул. Суханова, 8.

**Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,

690090, Российская Федерация, г. Владивосток, ул. Светланская, 27

***Приморская плодово-ягодная опытная станция Приморского научно-исследовательского института сельского хозяйства,

690910, Российская Федерация, г. Владивосток, п. Трудовое, ул. 50 лет Октября, 22

*Создание биотехнологических продуктов из сырья растительного происхождения актуально в связи с ухудшением экологической обстановки, популяризацией рафинированных продуктов и специализированных добавок (стероиды, антибиотики и т.д.), накапливающихся в организме человека. Целью работы являлось исследование безвредности и общей биологической ценности дикороса леспедецы двуцветной и пищевого продукта с ее использованием. Объектами исследования являлись: воздушно-сухая зеленая масса леспедецы двуцветной (молодые побеги, включающие молодые ветки и листья), ее экстракты и пищевой продукт с использованием экстрактов (желе). В результате исследований определены химический состав воздушно-сухой зеленой массы леспедецы и содержание полифенольных соединений в ее экстрактах в процессе хранения. Установлен подавляющий эффект водно-этанольного экстракта леспедецы в соотношении сырья к экстрагенту 1:10 и ростостимулирующий эффект – с гидромодулем 1:20; 1:30 соответственно при исследовании на тест-культуре *Tetrahymena pyriformis*. Определены микробиологические показатели и безопасность продукта на основе экстракта леспедецы. Установлено, что интенсивность развития *T. pyriformis* напрямую зависит от концентраций экстракта леспедецы в продукте; концентрации в пределах 1:50 не оказывают существенного влияния на рост и развитие живой клетки.*

Ключевые слова: леспедеца двуцветная, экстракт, безопасность, ростостимулирующий эффект, подавляющий эффект, токсичность.

Формат цитирования: Юферова А.А., Сахарова О.В., Смольяников В.А., Живчикова Р.И. Исследование токсичности и относительной биологической ценности леспедецы двуцветной и продукта с ее использованием // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8, N 3. С. 147–152. DOI: 10.21285/2227-2925-2018-8-3-147-152

INVESTIGATION OF THE TOXICITY AND RELATIVE NUTRIENT BIOAVAILABILITY OF LESPEDEZA BICOLOR AND PRODUCTS ON ITS BASIS

© А.А. Yuferova*, О.В. Sakharova**, V.A. Smol'yanikov*, R.I. Zhivchikova***

*Far Eastern Federal University,

8 Sukhanova St., Vladivostok 690091, Russian Federation

**Far Eastern State Technical Fisheries University

27 Svetlanskaya St., Vladivostok 690090, Russian Federation

***Primorskaya Fruit-berry Experimental Station of Russian Academy of Agricultural Sciences

22 50 Years of October St., Trudovoe, Vladivostok 690910, Russian Federation

The creation of biotechnological products from raw materials of plant origin is increasingly attracting much research attention due to issues associated with environmental degradation and prevalence of processed foods and food additives (steroids, antibiotics, etc.) that can accumulate in the human body. The aim of this work was to study the safety and nutrient bioavailability of wild-type Lespedeza bicolor and food products ob-

tained on its basis. The research objects consisted in the air-dried green mass of *Lespedeza bicolor* (young shoots and leaves) and its extracts, as well as a jelly produced from these extracts. As a result of experiments, the chemical composition of the air-dried green mass of *Lespedeza bicolor* and a change in the content of polyphenolic compounds in its extracts during storage have been determined. A suppressing effect of the aqueous ethanol extract of *Lespedeza bicolor* has been established, when the ratio between the raw material and the extractant equals 1:10. A growth-enhancing effect of the aqueous ethanol extract of *Lespedeza bicolor* is observed when the ratio between the raw material and the hydromodule equals 1:20. For the *Tetrahymena periformis* test culture, this effect was achieved at 1:30. The microbiological parameters and safety of products based on *Lespedeza bicolor* extracts have been determined. It has been established that the intensity of the *Tetrahymena periformis* development is directly dependent on the concentration of the *Lespedeza bicolor* extract in a product, with concentrations in the range 1:50 having little effect on the growth and development of living cells.

Keywords: *Lespedeza bicolor* Turcz, extract, safety, growth-stimulating effect, suppressive effect, toxicity

For citation: Yuferova A.A., Sakharova O.V., Smol'yanikov V.A., Zhivchikova R.I. Investigation of the toxicity and relative nutrient bioavailability of *lespedeza bicolor* and products on its basis. *Izvestia Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* [Proceedings of Universitets. Applied Chemistry and Biotechnology]. 2018, vol. (in Russian). 2018. T. 8, N 3. C. 147–152. DOI: <http://dx.doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-3-147-152>

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время актуально промышленное использование лекарственно-технического сырья, содержащего широкий спектр биологически активных веществ. К такому сырью относится леспедеца двуцветная (далее – леспедеца), имеющая существенные запасы [1]. Этноботанические исследования свидетельствуют о ее способности обеспечивать антистрессорное действие, защиту от рака, артериосклероза, сердечных заболеваний и др. [2, 3]. Леспедеца характеризуется повышенным содержанием каротина [4], в ее побегах содержатся такие флавоноиды, как кверцетин, кемпферол, изо-кверцитрин, ориентин, леспедин [1, 5]; листья представляют ценность и в качестве кормового сырья, содержащего белки, жиры, фосфор, кальций и др. Леспедеца находит широкое применение при острых и хронических заболеваниях почек, сопровождающихся отеками, альбуминурией, азотемией и образованием почечных камней [6]. Изучено протективное действие безалкогольного напитка с использованием леспедецы, имеющего в физиологически активных количествах биофлавоноидный состав, витамины С и Р, микроэлементы, полипептиды [7]. Использование экстракта леспедецы при посоле рыбы позволяет замедлить процессы окисления рыбного жира, продлевает сроки хранения [8]. Но ее применение в качестве компонента биологически активной добавки ограничено ТР ТС 021/2011.

Химический состав дикоросов весьма вариативен и зачастую сочетание определенных химических компонентов может привести к неоднозначным или негативным откликам у живой клетки. Целью работы являлось исследование биологической безопасности и ценности сырья и пищевого компонента с выраженными функциональными свойствами леспедецы двуцветной с помощью ресничной инфузо-

рии *T. pyriformis*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследуемое сырье было заготовлено в августе на плодово-ягодной станции Приморского НИИСХ и высушено на воздухе с последующим хранением в воздушной среде с ограниченным доступом света при средней температуре 4 °С.

Физико-химические показатели определяли стандартными методами (массовую долю сухих веществ – по ГОСТ ISO 2173-2013, влаги – по ГОСТ 24027.2-80 п.1, общей золы – по ГОСТ 24027.2-80 п.2, белка и жира – согласно методике [9], углеводы – расчетным методом); показатели микробиологической порчи – согласно нормативам ТР ТС 021/2011; микробиологические исследования, основанные на сравнительном отклике условнопатогенной микрофлоры *Bacillus subtilis* на экстракты леспедецы – дисковым методом [10, 11]; полифенолы – по ГОСТ Р 55488-2013; относительную биологическую ценность (ОБЦ) и безопасность экстрактов и продукта – на тест-культуре *T. pyriformis* [12].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По данным наших исследований воздушно-сухая зеленая масса леспедецы (влажность 6,1%) содержит (масс. %): белка – в пределах 18,3, липидов – 2,8, углеводов – 66,3 и минеральных веществ – 6,5. Содержание полифенолов в процессе ее хранения определяли в ее этанольных экстрактах с гидромодулем 1:20 после 6 и 18 мес хранения; оно составило 2,37 и 0,54 мг/мл соответственно.

Исследованы токсичность и ОБЦ водно-этанольных 50%-ных экстрактов леспедецы с гидромодулем 1:10; 1:20; 1:30 и фруктового желе с заменой 25% фруктового сока на соответствующую часть экстракта леспедецы с гидромодулем ее воздушно-сухой зеленой массы к экстрагенту 1:10; 1:20 и 1:50 (рис. 1).

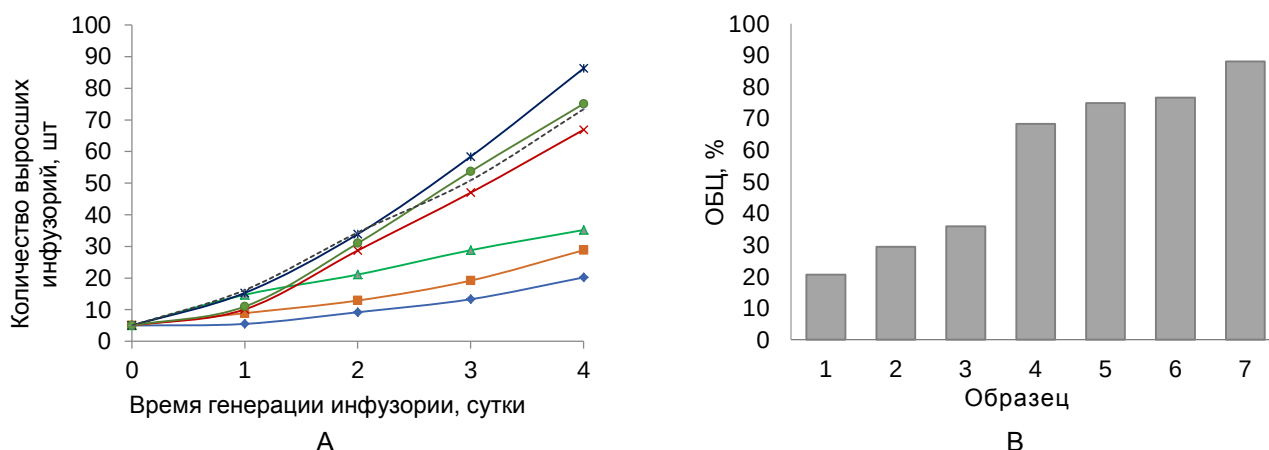


Рис. 1. Оценка роста и развития *T. pyriformis* в образцах течение 4 сут хранения:
A – (1 – экстракт леспедецы с гидромодулем 1:10; 2 – экстракт 1:20; 3 – экстракт 1:30;
 4 – продукт с внесением экстракта с гидромодулем 1:10; 5 – контрольный образец;
 6 – продукт с экстрактом (1:50); 7 – продукт с экстрактом (1:20),
В – ОБЦ исследуемых образцов

Fig. 1. Growth and development of *T. pyriformis* in samples for 4 days of storage:
A – (1 – Lespedeza extract (hydromodule 1:10); 2 – extract (hydromodule 1:20);
 3 – extract (hydromodule 1:30); 4 – product with extract (hydromodule 1:10);
 5 – control sample; 6 – product with extract (hydromodule 1:50);
 7 – product with extract (hydromodule 1:20), **B** – relative biological value of the samples



Рис. 2. Исследование асептических свойств экстрактов леспедецы дисковым методом:
 образец 1 – экстракт леспедецы с гидромодулем 1:20;
 2 – экстракт леспедецы с гидромодулем 1:10; 3 – стрептомицин;
 4 – ауреомицин; 5 – террамицин; 6 – леомицин

Fig. 2. Investigation of Lespedeza extracts aseptic properties by the disk method:
 sample 1 – Lespedeza extract (hydromodule 1:20); 2 – lespedeza extract (hydromodule 1:10);
 3 – streptomycin; 4 – aureomycin; 5 – terramycin; 6 – leomycin

Экстракцию с предварительным измельчением сырья проводили в течение 60 мин при 60 °С. В качестве контроля для исследования продукта использовали образец фруктового желе, подготовленный согласно рецептуре [13]. Из данных эксперимента (рис. 1) видно, что экстракты с гидромодулем в пределах 1:50 не имеют существенного влияния на рост и развитие живой клетки, тогда как экстракт с гидромодулем 1:10 способен задерживать ее рост и развитие.

Рациональную концентрацию имеет экстракт леспедецы с гидромодулем в пределах 1:20; 1:30, так как дает максимально положительный результат по количеству выросших особей тест-объекта *T. pyriformis* как отдельно, так и в сочетании с продуктом. Ростостимулирующие свойства экстрактов подтверждены результатом эксперимента на 9-е сутки экспозиции – количество выросших особей составило: 34,6; 48,7 и 53,8 штук клеток в 1 поле зре-

ния для образцов 1, 2 и 3 соответственно. На всем этапе эксперимента мутаций и гибели единичных клеток не наблюдалось.

Экстракты леспедецы исследовали на предмет ее асептических характеристик, которыми обусловлены ее противовоспалительные свойства (рис. 2).

Из рис. 2 видно, что диск 2 с экстрактом леспедецы с гидромодулем 1:10 дал асептический отклик, хотя и минимальный, что свиде-

тельствует о наличии некоторого асептического эффекта, предположительно основанного на влиянии фитонцидов на живую клетку. Можно говорить об асептических или бактерицидных свойствах леспедецы, но сниженных по сравнению с антибиотиками или консервантами (рис. 2, диски 4–6).

Микробиологические исследования продукта с внесением экстрактов леспедецы представлены в таблице.

Микробиологические показатели продукта с экстрактами леспедецы

Microbiological indicators of the product with *Lespedeza* extracts

Наименование	КМАФАнМ, КОЕ/г, не более		БГКП, (коли-формы) в 1,0 г; <i>S. aureus</i> в 1,0 г; Патогенные, в том числе сальмонеллы в 25 г	
	Фактическое	ПДК	Фактическое	ПДК
	Через 24 час после выработки / на 5-е сутки хранения			
Контрольный образец	$2,8 \cdot 10^2$ / $8,9 \cdot 10^2$	не более $1 \cdot 10^3$	отс. / отс.	не доп.
Продукт с экстрактом (1:10)	$1,0 \cdot 10^2$ / $2,2 \cdot 10^2$	не более $1 \cdot 10^3$	отс. / отс.	не доп.
Продукт с экстрактом (1:20)	$2,3 \cdot 10^2$ / $7,6 \cdot 10^2$	не более $1 \cdot 10^3$	отс. / отс.	не доп.

По данным таблицы, после добавления экстрактов наблюдается подавление аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов в продукте, что способствует увеличению его сроков хранения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определены химический состав леспедецы и общее количество полифенолов, свиде-

тельствующее о снижении их содержания в процессе хранения сырья. Установлен подавляющий рост и развитие живой клетки эффект водно-этанольного экстракта леспедецы с гидромодулем 1:10 и ростостимулирующий эффект с гидромодулем в пределах 1:20; 1:30. Экстракты с гидромодулем в пределах 1:50 не оказывают существенного влияния на рост и развитие живой клетки.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Косицын В.Н. Оценка запасов недревесной продукции леса на основе данных государственной инвентаризации лесов // Лесная таксация и лесоустройство. 2015. N 1(52). С. 54–56.
2. Bano A., Naz R., Yasmin H. In vitro inhibition potential of *Lespedeza bicolor* Turcz against selected bacterial and fungal strains // Journal of Medicinal Plants Research. 2011. vol. 5(16). P. 3708–3714.
3. Черняк Д.М., Титова М.С. Антистрессорное действие дальневосточных растений // Тихоокеанский медицинский журнал. 2014. N 2. С. 28–30.
4. Титова М.С., Черняк Д.М. Содержание каротина и витаминов Е и С в дальневосточных растениях // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. N 2. С. 92–93.
5. Ullah S. Methanolic extract from *Lespedeza bicolor*: potential candidates for natural antioxidant anticancer agent // Journal of Traditional Chinese Medicine. 2017. vol. 37(4). P. 444–451.
6. Таллал А.Д., Маркарян А.А. Разработка и фитохимическое изучение растительной композиции для профилактики и лечения заболеваний и мочевыделительной системы // Медицинский вестник Башкортостана. 2008. N 3. С. 53–56.
7. Гуляев В.Г и др. Безалкогольный оздоровительный напиток «Леспи». Патент РФ, N 2281013, 2006.
8. Пат. N 2120761, РФ Способ посола лососевых рыб. Чумак А.Д. и др. 1998.
9. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов // Рос. акад. мед. наук. Ин-т питания; под ред. профессоров чл.-кор. МАИ И.М. Скурихина, акад. В.А. Тутельяна. М.: Брандес: Медицина, 1998. 341 с.
10. NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; ninth informational supplement M100-S9. 1999. vol. 19. N1.
11. Methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. EUCAST Definitive document // Clin Microbiol Infect.

1998. vol. 4. P.291–296.

12. Игнат'ев А.Д., Исаев М.К., Долгов В.А. и др. Модификация метода биологической оценки пищевых продуктов с помощью ресничной инфузории тетрахимена пириформис //

Вопросы питания. 1980. N 1. С. 70–71.

13. Здобнов А.И., Цыганенко В.А. Сборник рецептов блюд и кулинарных изделий: Для предприятий общественного питания. М.: ИКТЦ «Лада», 2009. 680 с.

REFERENCES

1. Kositsyn V.N. Estimation of non-timber forest products on the basis of state forest inventory data. *Lesnaya taksatsiya i lesoustroistvo* [Forest valuation]. 2015, no. 1 (52), pp. 54–56. (in Russian)
2. Bano A., Naz R., Yasmin H. In vitro inhibition potential of *Lespedeza bicolor* Turcz against selected bacterial and fungal strains. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011, vol. 5 (16). pp. 3708–3714.
3. Chernyak D.M., Titova M.S. Anti-stress action of Far Eastern plants. *Tikhookeanskii meditsinskii zhurnal* [Pacific Medical Journal]. 2014, no. 2, pp. 28–30. (in Russian)
4. Titova M.S., Chernyak D.M. The content of carotene and vitamins E and C in the Far Eastern plants. *Tikhookeanskii meditsinskii zhurnal* [Pacific Medical Journal]. 2015, no. 2, pp. 92–93. (in Russian)
5. Ullah S. Methanolic extract from *Lespedeza bicolor*: potential candidates for natural antioxidant anticancer agent. *Journal of Traditional Chinese Medicine*. 2017, vol. 37 (4), pp. 444–451.
6. Tallal A.D., Markaryan A.A. Development and phytochemical research of plant composition for the prevention and treatment of diseases and urinary system. *Meditsinskii vestnik Bashkortostana* [Bashkortostan Medical Journal]. 2008, no. 3, pp. 53–56. (in Russian)

7. Gulyaev V.G. [et al.]. *Bezalkogol'nyi ozdorovitel'nyi napitok «Lespi»* [Non-alcoholic wellness drink «Lespi»]. Patent RF, no. 2281013, 2006.
8. Chumak A.D. [et al.]. *Sposob posola lososovykh ryb* [Method for salting salmon]. Patent RF, no. 2120761, 1998.
9. *Rukovodstvo po metodam analiza kachestva i bezopasnosti pishchevykh produktov* [The manual on methods for analyzing food quality and safety]. Under the Editorship of I.M Skurikhin, V.A. Tutel'yan. Moscow: Branders: Meditsina Publ., 1998, 341 p.
10. NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; ninth informational supplement M100-S9. 1999, vol. 19, no. 1.
11. Methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. EUCAST Definitive document. *Clin. Microbiol. Infect.* 1998, vol. 4, pp. 291–296.
12. Ignat'ev A.D., Isaev M.K., Dolgov V.A. [et al.]. Modification of the method of biological evaluation of food products with the help of ciliary infusorium *Tetrahymena pyriformis*. *Voprosy pitaniya* [Nutrition issues]. 1980, no. 1, pp. 70–71. (in Russian)
13. Zdobnov A.I., Tsyganenko V.A. *Sbornik receptur blyud i kulinarykh izdelii* [Collection of recipes for dishes and culinary products: For public catering establishments]. Moscow: IKTTs «Lada» Publ., 2009, 680 p.

Критерии авторства

Юферова А.А., Сахарова О.В., Смоляников В.А., Живчикова Р.И. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Юферова А.А., Сахарова О.В., Смоляников В.А., Живчикова Р.И. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Contribution

Yuferova A.A., Sakharova O.V., Smol'yanikov V.A., Zhivchikova R.I. carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. uferova A.A., Sakharova O.V., Smol'yanikov V.A., Zhivchikova R.I. have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ Принадлежность к организации

Александра А. Юферова
Дальневосточный федеральный университет
к.т.н., доцент
juferovaa@mail.ru

AUTHORS' INDEX Affiliations

Aleksandra A. Yuferova
Far Eastern Federal University
Ph.D. (Engineering), Associate Professor
juferovaa@mail.ru

Ольга В. Сахарова

Дальневосточный государственный
технический рыбохозяйственный
университет

к.т.н.,
solo_78@bk.ru

Виктор А. Смольяников

Дальневосточный федеральный
университет

студент
x00vito00x@gmail.com

Раиса И. Живчикова

Приморская плодово-ягодная опытная
станция Приморского
научно-исследовательского института
сельского хозяйства

к.с.-х.н.,
Zhivchikova49@mail.ru

Ol'ga V. Sakharova

Far Eastern State Technical Fisheries University
Ph.D. (Engineering), Associate Professor
solo_78@bk.ru

Viktor A. Smol'yanikov

Far Eastern Federal University
Student

x00vito00x@gmail.com

Raisa I. Zhivchikova

Primor'e Fruit-berry Experimental Station of Rus-
sian Academy of Agricultural Sciences
Ph.D. (Agriculture), Senior Researcher
Zhivchikova49@mail.ru

Поступила 21.02.2018

Received 21.02.2018