

УДК 543.64

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ТЕРМИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ НА ИЗМЕНЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И АНТИБАКТЕРИАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЧЕЛИНОГО МЕДА

© 2024 г. Д. В. Грузнов^{1*}, О. А. Грузнова², А. В. Лобанов^{2, 3, 4},
А. Б. Сохликов¹, Г. Ш. Щербакова¹, С. П. Степанова¹, Н. И. Попов¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии — филиал ФГБНУ Федеральный научный центр Всероссийский институт экспериментальной ветеринарии Российской академии наук, Москва, Россия

²Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия

³Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия

⁴Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва, Россия

*E-mail: 79164422245@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.03.2023;
после доработки 29.05.2023;
принята в печать 20.06.2023

Проведен сравнительный анализ химического состава и антибактериальной активности верескового меда (*Calluna vulgaris*), подвергнутого термообработке при 35–40 °С в течение 12 ч. Выявлен диапазон температур (38–40 °С), при котором наблюдается снижение в меде концентрации H₂O₂, уменьшение активности D-глюкозо-1-оксидазы и увеличение содержания 5-гидрокси-метилфурфура. Степень химических изменений была прямо пропорциональна температуре и времени термического воздействия. Установлена корреляция между изменениями химического состава и антибактериальной активностью меда в отношении тест-микроорганизмов *Escherichia coli* (штамм 1257), *Staphylococcus aureus* (штамм 209-P) и *Bacillus cereus* (штамм 96). Полученные результаты показали, что нагрев меда до 37 °С даже в течение 12 ч не вызывал нежелательных изменений его химического состава и снижения антибактериальной активности. Таким образом, данный режим можно считать более щадящим и рекомендовать его для использования при проведении термообработки этого пищевого продукта.

Ключевые слова: термическая обработка, пероксид водорода, 5-гидрокси-метилфурфуrol, ферменты, сахара, инактивация, антибактериальная активность, пчелиный мед.

DOI: 10.31857/S0207401X24020099 EDN: WHJYDF

ВВЕДЕНИЕ

Пчелиный мед представляет собой сложную биологическую систему, содержащую в своем составе более 180 различных соединений [1]. Условно их объединяют в следующие группы: водная часть, сахара и неуглеводная фракция. Более 60% от общего содержания сахаров составляют моносахариды—глюкоза и фруктоза (α - и β -изомеры). К так называемой неуглеводной фракции относят ферменты, аминокислоты, органические и неорганические кислоты, зольные элементы, водорастворимые витамины, растительные пигменты и липиды [2–7].

На протяжении многих лет считалось, что из всех вышеперечисленных компонентов биологическую активность меда в основном обуславливают сахара, кислоты и ферменты. Однако в 1962 г.

J.W. White с соавт. в результате проведенного ряда экспериментов по изучению ингибирующего действия на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы доказали, что аналогичным свойством обладает также пероксид водорода. Для этой цели ими был разработан колориметрический метод, основанный на изменении цвета в результате действия 3,3'-диметоксибензидина, H₂O₂ и пероксидазы [8–10]. Следует отметить, что за прошедшее время данный подход претерпел многочисленные модификации и продолжает широко применяться исследователями при физико-химическом анализе меда [11–13].

Пероксид водорода в меде образуется под воздействием фермента D-глюкозо-1-оксидазы в результате двухстадийной окислительно-восстановительной реакции [14]. Окислительно-восста-

новительная активность D-глюкозо-1-оксидазы обуславливается коферментом флавинаденидинуклеотидом (ФАД). В первой, восстановительной полуреакции D-глюкозо-1-оксидаза катализирует окисление β -D-глюкозы путем переноса двух электронов и протона от первой гидроксильной группы β -D-глюкозы на кофактор ФАД с сопутствующим окислением глюкозы до глюконо-1,5-лактона. Далее глюконо-1,5-лактон гидролизуется до глюконовой кислоты. Во второй, окислительной полуреакции восстановленный кофермент ФАДН₂ повторно окисляется молекулярным кислородом. Кислород принимает два электрона, переданных от ФАДН₂, регенерируя каталитическую систему с сопутствующим образованием H₂O₂, который впоследствии гидролизуется до воды и кислорода металлсодержащим ферментом — каталазой. Каталазный каталитический цикл включает участие двух молекул: H₂O₂ и Fe^{III}. На первом этапе H₂O₂ служит окислителем, окисляя Fe^{III} до промежуточного оксиферрилла Fe^{IV}O. Одноэлектронный перенос от Fe^{III} к первой молекуле H₂O₂ разрывает связь O—O в молекулах и восстанавливает ее до воды и кислорода. Во второй части реакции восстановителем выступает вторая молекула H₂O₂. Двухэлектронное восстановление промежуточного оксиферрилла Fe^{IV}O H₂O₂ регенерирует исходную феррикаталазу, образуя одновременно кислород и другую молекулу воды [15, 16]. Кроме каталазы на уровень H₂O₂ влияют такие факторы, как коллоидное состояние меда, воздействие пероксидаз, тиолсодержащих пероксиредоксинов, аскорбиновой кислоты, УФ-излучения, а также низких и высоких температур [1, 16–18].

В меде, подвергнутом термической обработке, в результате дегидратации фруктозы и глюкозы образуется 5-гидроксиметилфурфурол (5-ГМФ). Считается, что 5-ГМФ обладает мутагенным действием, поэтому контроль за его содержанием крайне важен [19, 20].

Ранее нами была продемонстрирована корреляция между содержаниями H₂O₂ и 5-ГМФ в некоторых видах пчелиного меда при нагревании [21, 22]. Цель настоящей работы заключалась в сравнительном анализе изменения химического состава меда под воздействием температур от 35 до 40 °С и влияния этого процесса на бактерицидную активность меда. Полученные результаты могут быть использованы в качестве дополнитель-

ных рекомендаций при проведении контроля качества меда.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе были использованы образцы натурального пчелиного верескового меда, поступивших из регионов европейской части России и Республики Беларусь. Пробы отбирали и хранили согласно нормативной документации (НД), согласно ГОСТ 19792-2017 [23].

Монофлерность образцов меда подтверждали с помощью микроскопического анализа палинологического состава в соответствии с НД (ГОСТ 31769-2012) [24]. Световую микроскопию образцов меда проводили с использованием биноклярного микроскопа EUM-5000 (КНР) при увеличении $\times 400$.

Частоту встречаемости пыльцевых зерен, X_p , рассчитывали по формуле

$$X_p (\%) = G \cdot 100n^{-1},$$

где $G = \sum G_i$ — число пыльцевых зерен вереска во всех счетных полях, $n = \sum n_i$ — общее количество подсчитанных пыльцевых зерен во всех счетных полях, 100 — коэффициент пересчета относительных долей в проценты.

Фотографическое изображение пыльцевых зерен получали с помощью цифровой камеры M1000 PLUS производства компании Levenhuk (USA).

Содержание H₂O₂ в меде определяли с помощью ранее адаптированного и модифицированного нами спектрально-иодометрического метода, суть которого заключается в том, что при взаимодействии иодида калия с H₂O₂ в кислой среде выделяется молекулярный иод в форме комплексного аниона I₃⁻ и регистрируемый методом электронной абсорбционной спектроскопии [25]. Электронные спектры поглощения регистрировали с помощью спектрофотометра ПЭ5400УФ производства компании Экросхим (Россия)) в диапазоне длин волн $\lambda = 250$ –500 нм.

Концентрацию H₂O₂ рассчитывали по формуле

$$C = R(D - D_0)/\varepsilon,$$

где D — оптическая плотность аналитического раствора ($\lambda = 351$ нм); D_0 — оптическая плотность контрольного раствора (дистиллированная вода); R — коэффициент, учитывающий разбавление;

ε — коэффициент молярной экстинкции I_3 ($\varepsilon_{351} = 26400 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$).

Содержание сахарозы, глюкозы и фруктозы определяли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в соответствии с НД (ГОСТ 32167-2013) [26]. Анализ проводился с использованием хроматографа компании Shimadzu (Japan) серии LC-20 Prominence, колонки Eclipse XDB-C18 (250 мм × 4.6 мм × 5 мкм) производства компании Agilent (USA) в изократическом режиме при скорости потока 1.3 мл/мин. Подвижная фаза представляла собой смесь ацетонитрила и деионизированной воды в объемном соотношении 4:1. Были использованы аналитические стандартные образцы сахарозы, глюкозы и фруктозы — все производства компании Merck (USA) чистотой $\geq 99.5\%$.

Массовую долю сахаров рассчитывали по формуле

$$X = 100A_1V_1m_2A_2^{-1}V_2^{-1}m_1^{-1},$$

где A_1 — площадь или высота пика сахаров в растворе меда (м^2); V_1 — общий объем раствора меда (мл); m_2 — масса сахара, содержащаяся в общем объеме стандартного раствора (г); A_2 — площадь или высота пика соответствующего сахара в стандартном растворе (м^2); V_2 — общий объем стандартного раствора (мл); m_1 — проба меда (г).

Содержание 5-ГМФ определяли с помощью метода обращеннофазовой ВЭЖХ в соответствии с НД (ГОСТ 31768-2012) [27]. Анализ проводили с использованием хроматографа LC-20 Prominence (Shimadzu, Japan) колонки Eclipse XDB-C18 (150 мм × 4.6 мм × 5 мкм) в градиентном режиме при скорости потока 1.0 мл/мин. Был использован коммерческий 5-ГМФ с содержанием основного вещества не $< 99\%$ производства компании Sigma-Aldrich (USA), из которого приготавливали стандартные растворы с концентрациями 100, 50, 30, 20, 10, 5 и 2.0 мкг/мл для построения калибровочной кривой.

Определение точной массовой концентрации 5-ГМФ проводили с помощью спектрофотометра ПЭ5400УФ (Экротхим, Россия) на длине волны $\lambda = 285 \text{ нм}$. В качестве раствора сравнения использовали деионизированную воду.

Количество 5-ГМФ в образцах меда (мг/кг) рассчитывали на основе заранее построенной калибровочной кривой по формуле

$$M_{5\text{-ГМФ}} = C_{5\text{-ГМФ}}V_{\text{обр}}/m_{\text{м}},$$

где $C_{5\text{-ГМФ}}$ — концентрация 5-ГМФ, определенная по калибровочному графику (мкг/мл); $V_{\text{обр}}$ — объем анализируемой пробы (мл); $m_{\text{м}}$ — масса анализируемой пробы меда (г).

Определение активности каталазы осуществляли в соответствии с методикой, разработанной А.В. Аганиным [28], согласно которой активность выражали в мм^3 кислорода, выделяющегося при воздействии каталазы, содержащейся в 1 г меда, на 10 мл 1%-ного (по массе) раствора H_2O_2 в течение 24 ч. Для проведения данного анализа была использована коммерческая каталаза производства компании Sigma-Aldrich (USA) чистотой $\geq 90\%$, содержащая ≥ 30000 ед./мг белка.

Активность диастазы определяли согласно ГОСТ 34232-2017 [29] колориметрическим методом и выражали количеством см^3 1%-ного (по массе) раствора крахмала, расщепляемым за 1 ч амилолитическими ферментами, содержащимися в 1 г безводного вещества меда. Значение диастазной активности (ед. Готе) вычисляли по формуле

$$X = 100 \cdot 80(D_{\text{к}} - D_{\text{исп}})D_{\text{к}}^{-1}(100 - W)^{-1},$$

где 80 — коэффициент пересчета, $D_{\text{к}}$ — оптическая плотность контрольного раствора, $D_{\text{исп}}$ — оптическая плотность испытуемого раствора, W — массовая доля воды в меде (%).

Активность D-глюкозо-1-оксидазы определяли по методу, описанному в работе I. Flanjak с соавт. [30]. Сущность данного метода заключается в том, что H_2O_2 восстанавливается до воды пероксидазой с использованием 3,3'-диметоксибензидина в качестве субстрата. Образовавшийся окрашенный продукт детектировался спектрофотометрически и имел максимальное поглощение при длине волны $\lambda = 400 \text{ нм}$. Количественное определение проводили с использованием в качестве стандарта H_2O_2 (10–100 мкмоль/л) производства Fluka, (Germany). Результаты выражали в мкг H_2O_2 /ч на 1 г меда.

Антибактериальную активность исследуемых образцов меда определяли с использованием метода диффузии в агар с микроорганизмами суточных тест-культур. В качестве тест-микроорганизмов брали бактерии *Escherichia coli* (штамм 1257), *Staphylococcus aureus* (штамм 209-Р) и *Bacillus cereus* (штамм 96). Из смыва каждой культуры готовили суспензию с количеством микробных клеток

в 1 мл, равным 10^4 (количество устанавливалось по стандарту мутности), и высевали ее в предварительно подготовленные стерильные чашки Петри с мясо-пептонным агаром с лункой в центре (6 чашек на каждую пару микроорганизм-образец меда). В эти чашки помещали образцы меда весом (0.1 ± 0.01) г как подвергнутые тепловой обработке в термостате при различных температурах ($35-40$ °С) в течение 3 ч (для обработки (5.0 ± 0.01) г меда помещали в стерильные пенициллиновые флаконы и выдерживали в термостате указанное время), так и не подвергавшиеся температурному воздействию. Посевы инкубировались в течение 24 ч при температуре 37 °С. Учет результатов проводился по диаметру зоны задержки роста вокруг образца меда. В качестве контроля использовались чашки Петри, в которые не вносился образец меда.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспече-

ния MS Excel. Достоверность различия средних величин устанавливали с помощью t -критерия Стьюдента при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что вереск (Вереск обыкновенный, *Calluna vulgaris*) — один из самых распространенных медоносов России, стран СНГ и Европы. Так, например, на территории Республики Беларусь расположено около 800 тыс. га массива. Вересковый мед обладает высокими потребительскими и целебными свойствами [31–34].

Результаты палинологического анализа пыльцевых зерен в исследуемых пробах подтвердили их происхождение: основной минимум пыльцы вереска составил $82 \pm 2\%$. На рис. 1 приведена фотография пыльцевого зерна ($\times 400$).

Как видно, зерно находится в тетраэдрических и перекрестных тетрадах с округло-трехлопастным очертанием. Данное описание полностью совпа-

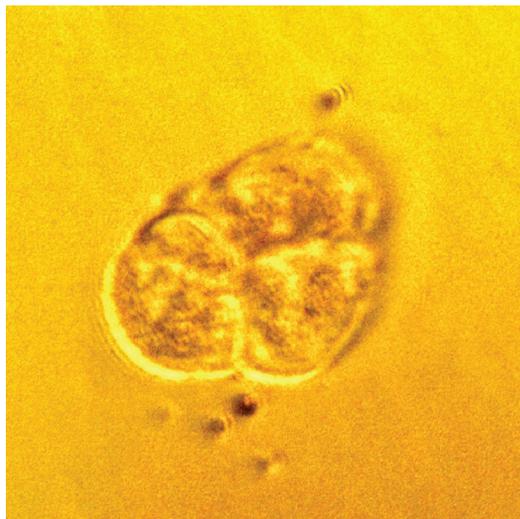


Рис. 1. Фотографическое изображение пыльцевого зерна Вереска обыкновенного — *Calluna vulgaris* ($\times 400$).

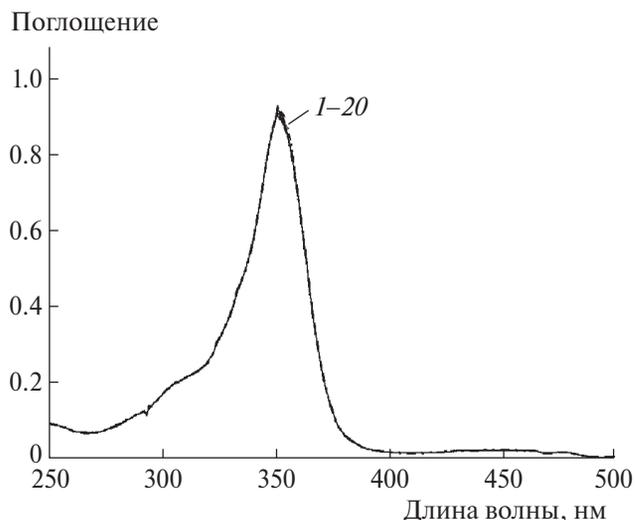


Рис. 2. Электронные спектры поглощения комплексного аниона I_3^- ($\lambda_{\max} = 351$ нм) в образцах верескового меда 1–20.

Таблица 1. Анализ состава образцов верескового меда

Контролируемый параметр	Регламентируемая НД норма	Среднее значение в тестируемых образцах
Глюкоза, %	Суммарная массовая доля, не менее 60.0	36.1 ± 2.3
Фруктоза, %		38.5 ± 1.5
Сахароза, %	Не более 5.0	2.18 ± 0.5
5-ГМФ, мг/кг	Не более 25.0	1.92 ± 0.45
Диастаза, ед. Готе	Не менее 8.0	40.1 ± 2.1
Каталаза, мм ³ О ₂	Не регламентировано	490 ± 27.4
D-глюкозо-1-оксидаза, мкг Н ₂ О ₂ /ч на 1 г меда	Не регламентировано	345.2 ± 15.4

дает с приведенным в литературных источниках [31, 32].

Для определения концентрации H_2O_2 в образцах меда был использован спектрально-иодометрический метод, примененный нами ранее для аналогичной цели при анализе меда различного ботанического происхождения [35]. На рис. 2 представлены электронные спектры регистрации комплексного аниона I_3^- в образцах для последующего расчета концентрации H_2O_2 . Можно видеть, что электронные спектры всех образцов после иодометрической процедуры были идентичны, характеризовались поглощением в УФ-области, максимум поглощения (λ_{max}) соответствовал 351 нм. В результате обработки полученных результатов по указанной выше формуле было установлено, что концентрация H_2O_2 в исследуемых образцах составила (137.4 ± 4.8) мкмоль/л.

В табл. 1 представлены результаты определения содержания в исследуемых образцах сахаров и 5-ГМФ, а также ферментативной активности. Как видно из данных таблицы, все показатели, регламентируемые НД, находились в установленных пределах. Определение активности каталазы и D-глюкозо-1-оксидазы на данный момент не регулируется законодательством РФ. Однако существуют литературные источники, в которых приведены методики их определения, так и данные, демонстрирующие успешность их применения при проведении анализа химического состава меда [28, 30].

Известно, что натуральный мед сохраняет свои ценные биологические свойства на протяжении достаточно длительного периода времени (более 1 года), но только при условии правильного хранения (согласно НД — вдали от прямых солнечных лучей, при температуре не более 20 °С). Установленные режимы в основном объясняются тем, что мед в своем составе содержит ферменты, которые являются термолабильными соединениями. Поэтому воздействие на мед высоких температур приводит к их инактивации [36]. К нагреванию при 60 °С прибегают, как правило, для смешивания нескольких разных видов меда или для подавления процессов брожения, которые могут возникнуть при нарушении условий хранения меда. Следует отметить, что обе описанные манипуляции запрещены законодательством и считаются нарушениями. Согласно НД, максималь-

ный температурный порог нагревания меда, при котором он сохраняет свои биологические свойства и химический состав в неизменном виде, составляет 40 °С [23].

В результате ранее проведенных нами исследований было установлено, что при температурах 20–34 °С существенных изменений в химическом составе меда разного ботанического происхождения (в том числе и верескового) не наблюдается: колебания значений физико-химических показателей не превышали 1.0% при воздействии указанных температур в течение 12 ч. В данной работе описаны изменения, произошедшие с химическим составом верескового меда в результате воздействия температур в диапазоне от 35 до 40 °С в различные периоды времени термообработки. Полученные данные представлены в виде кинетических кривых (рис. 3), из которых видно, что значительные изменения произошли с такими параметрами, как концентрация H_2O_2 , содержание 5-ГМФ и активность D-глюкозо-1-оксидазы.

Так, при обработке образцов меда в течение 3 ч при 38 °С наблюдалось снижение концентрации H_2O_2 на 18.1%, при 39 °С — на 28.2%, при 40 °С — на 34.7%. После 12-часовой термообработки этот показатель снизился на 81.5, 84.2 и 93.0% соответственно. Постепенное повышение содержания 5-ГМФ отмечалось после 3-часового воздействия при 40 °С, через 12 ч его уровень в образцах повысился на 66.2%, что тем не менее не превысило регламентируемую НД предельно допустимую концентрацию (ПДК) в 25.0 мг/кг. Активность D-глюкозо-1-оксидазы в результате воздействия температур 39 и 40 °С в течение 12 ч снизилась на 5.2 и 7.8% соответственно. Первые изменения этого параметра регистрировались через 3 ч после термической обработки при 38 °С. Следует отметить, что изменение активности диастазы и каталазы не превышали 0.05% даже при обработке образцов в течение 12 ч при 40 °С, что может объясняться их большей устойчивостью к температурному воздействию. Ожидаемым было отсутствие значительных изменений в содержании сахаров (не более 1.0%), так как известно, что процессы термической деструкции моно- и дисахаридов происходят при температурах, значительно выше примененных в данном исследовании.

Антибактериальную активность образцов необработанного меда (контроль) и подвергнутых

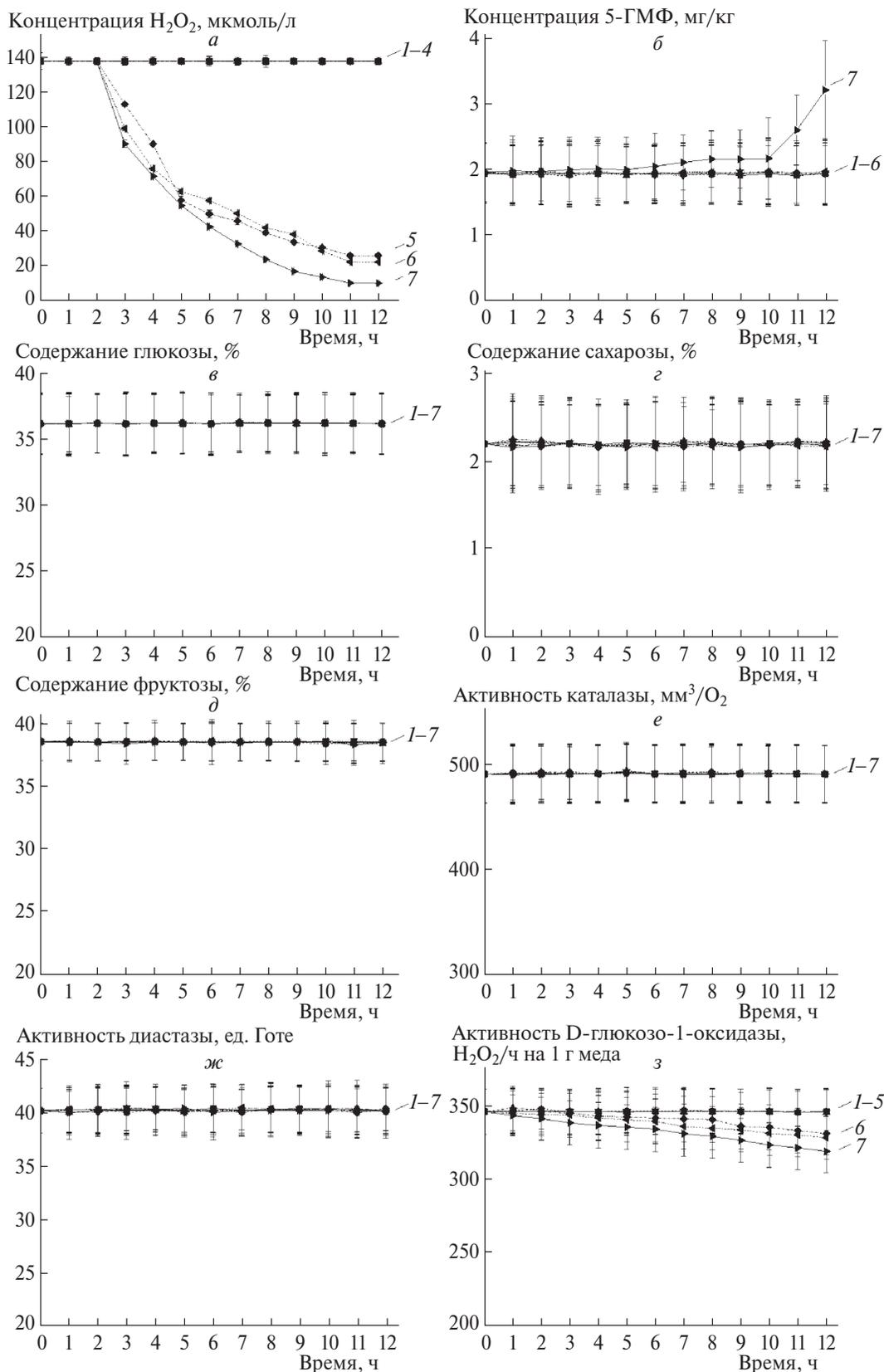


Рис. 3. Изменения химического состава образцов верескового меда: концентрации H_2O_2 (а), концентрации 5-ГМФ (б), содержания глюкозы (в), содержания сахарозы (г), содержания фруктозы (д), активности каталазы (е), активности диастазы (ж), активности D-глюкозо-1-оксидазы (з) без термического воздействия — контроль (необработанный мед) (1), и при воздействии в течение 12 ч температур 35 °С (2), 36 °С (3), 37 °С (4), 38 °С (5), 39 °С (6), 40 °С (7).

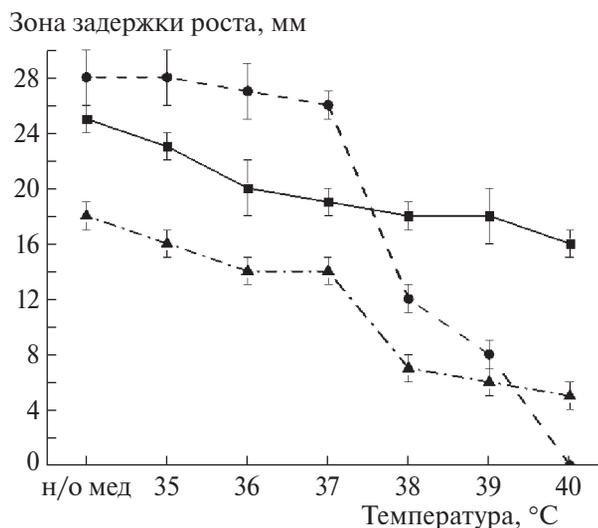


Рис. 4. Ингибирование роста бактерий *E. coli* (■), *S. aureus* (●) и *B. cereus* (▲) при воздействии необработанного (н/о мед) и термообработанного меда в течение 3 ч в интервале температур 35–40 °C.

термической обработке при 35–40 °C в течение 3 ч (время, по прошествии которого наблюдались явные изменения в химическом составе меда) исследовали на следующих микроорганизмах: *Escherichia coli* (штамм 1257), *Staphylococcus aureus* (штамм 209-P) и *Bacillus cereus* (штамм 96). Данный выбор был обусловлен тем, что указанные бактерии являются наиболее распространенными тест-культурами при проведении микробиологических исследований. *E. coli* (кишечная палочка) представляет собой грамотрицательную, колонизирующую кишечник млекопитающих палочковидную бактерию. Однако некоторые ее штаммы могут вызывать тяжелые пищевые отравления. Также следует отметить, что *E. coli* является модульным организмом, широко используемым для изучения различных процессов в молекулярных и биохимических исследованиях [37–41]. *S. aureus* (золотистый стафилококк) — грамположительная бактерия шаровидной формы колонизирует кожные покровы и слизистые оболочки. В результате ряда причин, в частности — снижения иммунитета, микроорганизм способен вызывать различные инфекционные заболевания [41, 42]. *B. cereus* представляет собой грамположительную спорообразующую почвенную бактерию, способную вызывать пищевые токсикоинфекции у млекопитающих [43].

Результаты бактериального теста представлены на рис. 4. Как видно, исследуемый мед, не подвергавшийся тепловой обработке, оказывает явное

воздействие на все микроорганизмы, использованные в качестве тест-культур, причем его влияние на рост стафилококка (средний диаметр зоны задержки роста составляет 28 мм) и кишечной палочки (25 мм) заметно выше, чем на представителя рода бацилл (18 мм), что можно объяснить более высокой устойчивостью почвенных бактерий к воздействию внешних факторов.

Для меда, подвергнутого тепловой обработке, наблюдается прямая зависимость падения его антибактериальной активности от температуры воздействия в отношении всех трех использованных тест-культур. Следует отметить наиболее резкое ее снижение в отношении *S. aureus* и *B. cereus* на отметке 38 °C (средняя зона задержки роста уменьшается с 26 до 12 мм для *S. aureus* и с 14 до 7 мм для *B. cereus*). Мед, нагретый до 40 °C, становится безопасным для стафилококков (зона задержки роста отсутствует) и оказывает существенно меньшее воздействие на бациллу (зона задержки роста не превышает 6 мм) по сравнению с образцом, не подвергавшимся воздействию температуры. Степень воздействия нагретого меда на *E. coli* снижается более плавно (резкого падения антибактериальной активности при 38 °C не наблюдается) и сохраняется даже при 40 °C (средняя зона задержки роста составляет 16 мм).

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований было установлено, что при воздействии на мед температур в диапазоне 35–37 °C на протяжении 12 ч значительных изменений в химическом составе не наблюдалось. Резкое снижение концентрации H_2O_2 , а также постепенное уменьшение активности D-глюкозо-1-оксидазы и увеличение содержания 5-ГМФ отмечалось после 3-часовой обработки при температуре 38 °C. Степень химических изменений была прямо пропорциональна температуре и времени термического воздействия. Существенных изменений в содержании сахаров не отмечалось. Снижения активности ферментов, считающегося критическим [44], при данных режимах не происходило.

Антибактериальная активность термообработанного меда в отношении всех использованных в эксперименте тест-культур коррелировала с изменением содержания H_2O_2 , который, как известно, является достаточно стабильной активной формой кислорода, вызывающей окислительный

стресс микробной клетки [45]. Таким образом, принимая в расчет отсутствие значительных изменений других параметров, обуславливающих бактерицидное действие меда, можно сделать вывод о ключевой роли H_2O_2 в этом процессе.

Полученные данные также позволяют предположить, что обработка меда при температуре 38 °С в течение 3 ч является критической для стабильности его химического состава, в то время как согласно действующей НД допускается нагрев до 40 °С при отборе образцов, проведении пробоподготовки и исследований. Так как было показано, что нагрев меда до 37 °С даже в течение 12 ч не вызывал нежелательных химических изменений состава, что было подтверждено и антибактериальным тестом, данный режим можно считать более щадящим и рекомендовать для его использования при анализе меда.

Работа выполнена в рамках проекта “Исследование проблем утилизации отходов природного происхождения в целях практического использования полученных продуктов” (№ 122122600056-9).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Villacrés-Granda I., Proano A., Coello D. et al.* // Food Chem. 2021. V. 365. № 15. P. 130519; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130519>
- Cagliani L.R., Maestri G., Consonni R.* // Food Contr. 2022. V. 133. P. 108574; <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2021.108574>
- Seraglio S.K.T., Schulz M., Brugnerotto P. et al.* // Food Res. Intern. 2021. V. 143. P. 110268; <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110268>
- Заикина В.И.* Экспертиза меда и способы обнаружения его фальсификации. М.: Издат. дом “Дашков и К^о”, 2012.
- Комлацкий В.И., Плотников С.А.* // Пчеловодство. 2006. № 2. С. 54.
- Черевко Ю.А., Носовицкий П.Б.* // Пчеловодство. 2000. № 3. С. 39.
- Doner L.W.* // J. Sci. Food Agric. 1977. V. 28. P. 443.
- Bogdanov S.* // Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. 1984. V. 17. P. 74.
- Almasaudi S.* // Saudi J. Biol. Sci. 2021. V. 28. № 4. P. 2188; <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017>
- White J.W., Subers M.H., Schepartz A.I.* // Biochim. Biophys. Acta. 1963. V. 7. № 73. P. 57.
- Kwakman P.H.S., te Velde A.A., de Boer L. et al.* // PLoS One. 2011. V. 6. № 3. P. 1; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017709>
- Lehmann D.M., Krishnakumar K., Batres M.A. et al.* // Access Microbiol. 2019. V. 1. № 10. P. 1; <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000065>
- Alygizou A., Grigorakis S., Gotsiou P. et al.* // J. Anal. Meth. Chem. 2021. V. 2021. P. 5554305; <https://doi.org/10.1155/2021/5554305>
- Wohlfart G., Witt S., Hendle J. et al.* // Acta Cryst., Sect. D: Biol. Crystallogr. 1999. V. 55. P. 969; <https://doi.org/10.1107/s0907444999003431>
- Jones P., Dunford H.B.* // J. Theoretical Biol. 1977. V. 69. P. 457.
- Brudzynski K.* // Food Chem. 2020. V. 1. № 332. P. 127229; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127229>
- Zámocký M., Gasselhuber B., Furtmüller P.G. et al.* // Arch. Biochem. Biophys. 2012. V. 525. № 2. P. 131; <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.01.017>
- Chen C., Campbell L.T., Blair Sh.E. et al.* // Front. Microbiol. 2012. V. 3. P. 265; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00265>
- Besir A., Yazici F., Mortas M. et al.* // LWT — Food Sci. Tech. 2021. V. 139. P. 110602; <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110602>
- Fang G.Z., Lv Y.Y., Sheng W. et al.* // Anal. Bioanal. Chem. 2011. V. 401. № 10. P. 3367; <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5430-4>
- Ярова О.А., Лобанов А.В.* // Рос. журн. “Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии”. 2012. № 2(8). С. 12.
- Ярова О.А., Сохликов А.Б., Лобанов А.В.* // Вестн. РАСХН. 2012. № 6. С. 51.
- ГОСТ 19792-2017. Мед натуральный. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2017.
- ГОСТ 31769-2012. Мед. Метод определения частоты встречаемости пыльцевых зерен. М.: Стандартинформ, 2019.
- Лобанов А.В., Рубцова Н.А., Веденеева Ю.А. и др.* // Докл. АН. 2008. Т. 241. № 6. С. 773.
- ГОСТ 32167-2013. Мед. Метод определения сахаров. М.: Стандартинформ, 2018.
- ГОСТ 31768-2012. Мед натуральный. Методы определения гидроксиметилфурфурала. М.: Стандартинформ, 2019.
- Аганин А.В.* Мед и его исследование. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1985.
- ГОСТ 34232-2017. Мед. Методы определения активности сахаразы, диастазного числа, нерастворимых веществ. М.: Стандартинформ, 2017.
- Flanjak I., Strelec I., Kenjeric D. et al.* // J. Apicult. Sci. 2015. V. 60. № 1. P. 39; <https://doi.org/10.1515/jas-2016-0005>
- Бурмистров А.Н., Нукитина В.А.* Медоносные растения и их пыльца: Справочник. М.: Росагропромиздат, 1990.
- Kasiotis K.M., Baira E., Iosifidou S. et al.* // Front. Chem. 2022. V. 10. P. 924881; <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.924881>

33. *Lehébel-Péron A., Sidawy P., Dounias E. et al.* // *J. Rur. Stud.* 2016. V. 44. P. 132;
<https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2016.01.005>
34. *Andrade P.B., Amaral M.T., Isabel P. et al.* // *Food Chem.* 1999. V. 66. № 4. P. 503;
[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00100-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00100-4)
35. *Ярова О.А., Лобанов А.В.* // РЖ “Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии”. 2012. № 1(7). С. 1.
36. *Vucekova M., Juricova V., Monton E. et al.* // *Food Chem.* 2018. V. 240. P. 1131;
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.054>
37. *Крупянский Ю.Ф.* // *Хим. физика.* 2021. Т. 40. № 3. С. 60;
<https://doi.org/10.31857/S0207401X21030079>
38. *Терешкин Э.В., Лойко Н.Г., Терешкина К.Б. и др.* // *Хим. физика.* 2021. Т. 40. № 11. С. 48;
<https://doi.org/10.31857/S0207401X21110091>
39. *Крупянский Ю.Ф., Генералова А.А., Коваленко В.В. и др.* // *Хим. физика.* 2023. Т. 42. № 6. С. 3;
<https://doi.org/10.31857/S0207401X23060067>
40. *Терешкин Э.В., Терешкина К.Б., Лойко Н.Г. и др.* // *Хим. физика.* 2023. Т. 42. № 5. С. 30;
<https://doi.org/10.31857/S0207401X23050138>
41. *Тертышина Ю.В., Лобанов А.В., Хватов А.В.* // *Хим. физика.* 2020. Т. 39. № 11. С. 52;
<https://doi.org/10.31857/S0207401X20110138>
42. *Kluytmans J., van Belkum A., Verbrugh H.* // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1997. V. 10(3). P. 505.
43. *Rahnama H., Azari R., Yousefi M.H. et al.* // *Food Contr.* 2022. V. 143. P. 109250;
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109250>
44. *Матиенко Л.И., Миль Е.М., Бинюков В.И.* // *Хим. физика.* 2020. Т. 39. № 6. С. 87;
<https://doi.org/10.31857/S0207401X20060084>
45. *Карбышев М.С., Абдуллаев Ш.П.* Биохимия оксидативного стресса: Учебно-методическое пособие. М.: РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 2018.

INFLUENCE OF DIFFERENT HEAT TREATMENT REGIMES ON THE CHANGE OF CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BEE HONEY

D. V. Gruznov^{1*}, O. A. Gruznova², A. V. Lobanov^{2, 3, 4},
A. B. Sokhlikov¹, G. Sh. Shcherbakova¹, S. P. Stepanova¹, N. I. Popov¹

¹All-Russian Research Institute for Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology — Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Research Center All-Russian Research Institute for Experimental Veterinary Science Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

³Moscow Pedagogical State University, Moscow, Russia

⁴Plekhanov Russian University of Economics, Moscow, Russia

*E-mail: 79164422245@yandex.ru

The studies of the chemical composition and antibacterial activity of heather honey (*Calluna vulgaris*) subjected to heat treatment at 35–40°C for 12 hours were carried out. The temperature range (38–40°C), at which decrease in the H₂O₂ concentration, decrease in D-glucose-1-oxidase activity and increase in the 5-hydroxymethylfurfural content, was identified. The degree of chemical changes was directly proportional to the temperature and time of thermal exposure. The correlation between changes in the chemical composition and antibacterial activity of honey against test microorganisms *Escherichia coli* (strain 1257), *Staphylococcus aureus* (strain 209-P) and *Bacillus cereus* (strain 96) was established. The obtained results showed that heating honey to 37 °C even for 12 hours didn't cause undesirable changes in its chemical composition and decrease in antibacterial activity. Thus, this temperature regime can be considered more gentle and recommended for use in the heat treatment of this food product.

Keywords: heat treatment, hydrogen peroxide (H₂O₂), 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF), enzymes, sugars, inactivation, antibacterial activity, bee honey.

REFERENCES

- Villacres-Granda I., Proano A., Coello D. et al. // Food Chem. 2021. V. 365. № 15. P. 130519; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130519>
- Cagliani L.R., Maestri G., Consonni R. // Food Contr. 2022. V. 133. P. 108574; <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2021.108574>
- Seraglio S.K.T., Schulz M., Brugnerotto P. et al. // Food Res. Intern. 2021. V. 143. P. 110268; <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110268>
- Zaikina V.I. Ekspertiza meda i sposoby obnaruzheniya yego fal'sifi katsii. M.: Izdatel'skiy dom "Dashkov i Ko", 2012.
- Komlatsky V.I., Plotnikov S.A. // Pchelovodstvo. 2006. V. 2. P. 54.
- Cherevko Yu.A., Nosovitsky P.B. // Pchelovodstvo. 2000. V. 3. P. 39.
- Doner L.W. // J. Sci. Food Agric. 1977. V. 28. P. 443.
- Bogdanov S. // Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. 1984. V. 17. P. 74.
- Almasaudi S. // Saudi J. Biol. Sci. 2021. V. 28. № 4. P. 2188; <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017>
- White J.W., Subers M.H., Schepartz A.I. // Biochim. Biophys. Acta. 1963. V. 7. № 73. P. 57.
- Kwakman P.H.S., te Velde A.A., de Boer L. et al. // PLoS One. 2011. V. 6. № 3. P. 1; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017709>
- Lehmann D.M., Krishnakumar K., Batres M.A. et al. // Access Microbiol. 2019. V. 1. № 10. P. 1; <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000065>
- Alygizou A., Grigorakis S., Gotsiou P. et al. // J. Anal. Meth. Chem. 2021. V. 2021. P. 5554305; <https://doi.org/10.1155/2021/5554305>
- Wohlfart G., Witt S., Hendle J. et al. // Acta Cryst., Sect. D: Biol. Crystallogr. 1999. V. 55. P. 969; <https://doi.org/10.1107/s0907444999003431>
- Jones P., Dunford H.B. // J. Theoretical Biol. 1977. V. 69. P. 457.
- Brudzynski K. // Food Chem. 2020. V. 1. № 332. P. 127229; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127229>
- Zamocky M., Gasselhuber B., Furtmuller P.G. et al. // Arch. Biochem. Biophys. 2012. V. 525. № 2. P. 131; <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.01.017>
- Chen C., Campbell L.T., Blair Sh.E. et al. // Front. Microbiol. 2012. V. 3. P. 265; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00265>
- Besir A., Yazici F., Mortas M. et al. // LWT — Food Sci. Tech. 2021. V. 139. P. 110602; <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110602>
- Fang G.Z., Lv Y.Y., Sheng W. et al. // Anal. Bioanal. Chem. 2011. V. 401. № 10. P. 3367; <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5430-4>
- Yarova O.A., Lobanov A.V. // RZh "Problemy veterinarnoy sanitarii, gigiyeny i ekologii". 2012. V. 2. P. 12.
- Yarova O.A., Sokhlikov A.B., Lobanov A.V. // Vestnik RASKHN. 2012. V. 6. P. 51.

23. GOST (State Standard) 19792-2017. Natural honey. Specifications.
24. GOST (State Standard) 31769-2012. Honey. Determination of the relative frequency of pollen.
25. Lobanov A.V., Rubtsova N.A., Vedeneeva Yu.A. et al. // Dokl. Chem. 2008. V. 421. P. 190.
26. GOST (State Standard) 32167-2013. Honey. Method for determination of sugars.
27. GOST (State Standard) 31768-2012. Natural honey. Methods for determination of hydroxymethylfurfural.
28. Aganin A.V. Med i yego issledovaniye. Saratov: Izdatel'stvo Saratovskogo universiteta, 1985.
29. GOST (State Standard) 34232-2017. Honey. Methods for determination of sucrose activity, diastase activity, insoluble matters.
30. Flanjak I., Strelec I., Kenjerić D. et al. // J. Apicult. Sci. 2015. V. 60. № 1. P. 39; <https://doi.org/10.1515/jas-2016-0005>
31. Burmistrov A.N., Nikitina V.A. Medonosnyye rasteniya i ikh pyl'tsa: Spravochnik. M.: Rosagropromizdat, 1990.
32. Kasiotis K.M., Baira E., Iosifi dou S. et al. // Front. Chem. 2022. V. 10. P. 924881; <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.924881>
33. Lehebel-Peron A., Sidawy P., Dounias E. et al. // J. Rur. Stud. 2016. V. 44. P. 132; <https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2016.01.005>
34. Andrade P.B., Amaral M.T., Isabel P. et al. // Food Chem. 1999. V. 66. № 4. P. 503; [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00100-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00100-4)
35. Yarova O.A., Lobanov A.V. // Problemy veteri narnoy sanitarii, gigiyeny i ekologii. 2012. V. 1. P. 1.
36. Bucekova M., Juricova V., Monton E. et al. // Food Chem. 2018. V. 240. P. 1131; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.054>
37. Krupyanskii Y. F. // Russ. J. Phys. Chem. B. 2021. V. 15. P. 326. <https://doi.org/10.1134/S199079312102007X>
38. Tereshkin E.V., Loiko N.G., Tereshkina K.B. et al. // Russ. J. Phys. Chem. B. 2021. V. 15. P. 1026. <https://doi.org/10.1134/S1990793121060099>
39. Krupyanskii Y.F., Generalova A.A., Kovalenko V.V. et al. // Russ. J. Phys. Chem. B. 2023. V. 42. P. 3.
40. Tereshkin E.V., Tereshkina K.B., Loiko N.G. et al. // Russ. J. Phys. Chem. B. 2023. V. 42. P. 30.
41. Tertyshnaya Y.V., Khvatov A.V., Lobanov A.V. // Russ. J. Phys. Chem. B. 2020. V. 14. P. 1022. <https://doi.org/10.1134/S1990793120060135>
42. Kluytmans J., van Belkum A., Verbrugh H. // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1997. V. 10(3). P. 505.
43. Rahnama H., Azari R., Yousefi M.H. et al. // Food Contr. 2022. V. 143. P. 109250; <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109250>
44. Matienko L.I., Mil E.M., Binyukov V.I. // Russ. J. Phys. Chem. B. 2020. V. 14. P. 559. <https://doi.org/10.1134/S1990793120030227>
45. Karbyshev M.S., Abdullaev Sh.P. Biokhimiya oksidativnogo stressa: Uchebno-metodicheskoye posobiye. M.: RNIMU im. N. I. Pirogova Minzdrava Rossii, 2018.