

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ИНСТИТУТ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ
РОСССКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Одинец
Алексей Глебович

**НОВЫЕ ПОДХОДЫ В БИОТЕХНОЛОГИИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ
ПРОДУКТОВ ДЛЯ ДИЕТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ
ИЗ БУРЫХ МОРСКИХ ВОДОРОСЛЕЙ**

03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель
Член-корр. РАН д.м.н. Орлов Олег Игоревич

Научный консультант
Д.м.н., профессор Ильин Вячеслав Константинович

Москва – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
Актуальность темы исследования.....	3
Степень разработанности темы.....	6
Цель и задачи исследования	7
Научная новизна исследования.....	8
Теоретическая и практическая значимость исследования.....	9
Методология и методы исследования.....	9
Основные положения, выносимые на защиту.....	9
Степень достоверности и апробация результатов.....	10
Личный вклад автора.....	11
Публикации.....	12
СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.....	13
Глава 1. Биотехнология бурых морских водорослей и её место в комплексной терапии заболеваний человека.....	13
Глава 2. Описание материалов и методов исследования.....	20
Глава 3. Результаты работы и их обсуждение.....	78
Глава 4. Клинические наблюдения.....	104
ВЫВОДЫ.....	107
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	109
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	110
СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ.....	129

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Бурые морские водоросли являются ценнейшим сырьем для различных отраслей экономики, в первую очередь, таких как пищевая и медицинская промышленность [7,32,33,35,101,105]. Морские водоросли - наиболее "урожайные" растения моря, создающие до 150 тонн зеленой массы с гектара в год. Их запасы в Мировом океане исчисляются сотнями миллионов тонн [2,73,79]. В настоящее время известно об использовании бурых водорослей человеком в самых различных целях: непосредственное употребление в пищу [16,37], использование в качестве корма сельскохозяйственным животным [29,30], внесение в почву в виде удобрений для повышения плодородия, производства гидроколлоидов и биологически активных веществ [15,17,34,83], широкое применение в медицине [5,90,92,122,155]. Включение морских водорослей в арсенал важнейших лекарственных средств насчитывает много столетий. В VIII веке из них изготавливали активно действующие препараты для лечения водянки. В древнем Китае морскую капусту применяли для лечения нарывов и злокачественных опухолей. Индия давно знала о водорослях как эффективном средстве в борьбе с некоторыми заболеваниями желез внутренней секреции. Основными странами, развивающими добычу и переработку водорослей, являются не только государства Восточно-Азиатского континента - Китай, Япония, Южная Корея, Филиппины, но и Норвегия, Великобритания, Франция, США, Германия, Чили [157,165]. В морях нашей страны произрастает около 900 видов водорослей, из которых на долю бурых приходится 30 % [2,35,73,79].

Результаты спектрального анализа серии образцов бурых водорослей видов *Laminaria japonica* (и *Laminaria saccharina*), а также *Fucus vesiculosus*, проведенного в НИИ физиологии им. акад. А.А. Ухтомского, оказались почти

идентичными. Для вышеуказанных бурых морских водорослей характерен близкий химический состав (в % к сухому веществу) (Таблица 1 и Таблица 2). Оба вида богаты минеральными солями и микроэлементами, но *Fucus vesiculosus* содержит больше железа, ванадия, циркония, ниобия, молибдена, кобальта, магния, кальция в нем в 35 раз выше содержания марганца. Йода в фукусе содержится от 0,02-0,32% от веса. В остальном, химический состав *Fucus vesiculosus* сходен с видами бурых водорослей *Laminaria japonica* и *Laminaria saccharina*. Существенно, что все вышеназванные элементы находятся в органических соединениях и поэтому лучше усваиваются организмом [81,96,113].

Основным структурным полисахаридом бурых морских водорослей является альгиновая кислота [21,27]. Это сополимер β -D маннуроновой и α -L гулууроновой кислот, не способный расщепляться и всасываться в желудочно-кишечном тракте человека [59,129,132]. Эта особенность снижает биодоступность биологически-активных веществ [70,128,173]. Очень важным свойством альгинатов (кальция и натрия) является их способность задерживать всасывание радиоактивного стронция в кишечнике, предотвращая таким образом его накопление в организме. [40,42,131]. Альгиновые гели используют как средства для иммобилизации клеток бактерий и дрожжей [150].

С другой стороны, традиционные методы повышения биодоступности, к которым относятся термообработка, приводят к деградации витаминов и некоторых полисахаридов, в первую очередь фукоидана [39,68,104,115,127].

Фукоиданы являются эффективными антикоагулянтами, причем даже более эффективными, чем гепарин [89,163,172]. Отдельные фракции фукоиданов характеризуются высокой антилипемической активностью [44]. Благодаря способности связывать металлы, в частности, свинец, фукоиданы могут быть использованы для уменьшения кишечной абсорбции свинца и предотвращения отравления им [41,54]. Перспективно получение на их основе противоопухолевых препаратов [24,107,137] и противовирусных соединений против пикорна-, арбо-, герпес- и миксавирусов [52,53,100,144,168].

Как и многие другие сульфатированные полисахариды, фукоиды даже в очень низких концентрациях могут ингибировать прикрепление вируса ВИЧ-1 к поверхности клеток [141,152,162].

Продолжаются дальнейшие исследования противоопухолевой и противометастатической активности фукоидана [146,158]. Многочисленные исследования ученых подтверждают противовирусную активность фукоидана в отношении вирусов герпеса 1-го и 2-го типов, вирусов гриппа, цитомегаловируса [142,166].

Наружное нанесение препаратов с фукоиданом предотвращает нарушение выработки коллагена под воздействием ультрафиолетового излучения, наблюдаемого при фотостарении кожи [100]. Зеленые и красные макроводоросли могут быть резервуаром дрожжей *Candida*, в то время как бурые водоросли (ламинариевые и фукусовые), выделяющие фенольные соединения, способны подавлять рост дрожжей. Особенно высокой противогрибковой активностью в отношении *C. albicans* обладает *Fucus evanescens* [55]. Микрофлора бурых морских водорослей представляет практический интерес в связи с возможным вкладом в нормализацию микрофлоры желудочно-кишечного тракта [38]. В ряде работ отмечены как пребиотические [23,45], так и пробиотические свойства бурых морских водорослей [3,46]. Сильным антимикробным действием обладают БАВ фенольной группы, содержащиеся в широко распространенной водоросли *A. nodosum*. Противомикробные субстанции, продуцируемые этим видом морских водорослей, характеризуются разнообразием химического строения. Большую часть биологически активного комплекса составляют производные тетрагидробензола, этерифицированные серной кислотой в 1,2,3 и 5-м положениях. БАВ противомикробного действия, содержащиеся в *A. nodosum*, ингибируют рост большого числа микроорганизмов, включая *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Brucella melitensis*, *Salmonella typhosa*, *Aerobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris* [93].

Приведённые данные позволяют сделать вывод о высокой актуальности темы в связи с многоплановым воздействием на организм человека продуктов из бурых морских водорослей.

Степень разработанности темы

Бурые морские водоросли содержат фармакологически активные природные соединения, которые привлекают исследователей всего мира [22,104,118], несмотря на динамику химического состава [4,94,112]. Широко изучены соотношения структура-функция для альгинатов [128,173] и фукоидана [143,145,153,175]. Исследования доказали противовоспалительное [139], антикоагулянтное и антиагрегантное [126], противоопухолевое [74,91], антирадиационное [40,41], иммуномодулирующее [20,25,123] и противомикробное [150] действие альгиновой кислоты и ее солей. Благодаря этому альгинаты получили применение в разных областях медицины, особенно в гастроэнтерологии [9,23] и эндокринологии, в том числе для лечения ожирения [102,114,133,161,168].

Изучению механизмов действия фукоидана бурых морских водорослей посвящено большое количество исследований по всему миру [19,88,110,121,156]. Для фукоидана доказан широкий спектр биологических эффектов: антикоагулянтный [89], противовирусный [53,142], антиоксидантный [98,108,116,117], гиполипидемический и противовоспалительный [44,80], противоопухолевый [137,146]. Согласно опубликованным научным данным, фукоидан, как и альгинаты, эффективен для лечения больных с патологией желудочно-кишечного тракта [56].

Разработаны разные способы экстракции из водорослей биологически активных веществ [1,18], в том числе из *Fucus evanescens* [28] и *Laminaria japonica* [127]. Изучена биотехнология получения альгината кальция [65,66,67,69], в том числе с применением энзимов [120,147], а также влияние способов консервации на его свойства [40,68].

Структура клеточной стенки водорослей имеет ряд особенностей [106,111], поэтому является затруднительным получение биологически активных веществ при употреблении водорослей в рационе. Однако традиционные технологии переработки приводят к деградации витаминов и некоторых полисахаридов, в первую очередь фукоидана [10,11,14,58,84,85].

Требуется разработка новой биотехнологии получения фармакологически активных веществ из бурых морских водорослей для создания продуктов с дальнейшим использованием в качестве лечебно-профилактического питания.

Цель и задачи исследования

Цель работы - разработка биотехнологии получения новых продуктов из бурых морских водорослей для диетического (лечебного и профилактического) питания, сохраняющих основные нутриенты: полисахариды, антиоксиданты и естественную микрофлору.

Решались следующие задачи исследования:

1. Обосновать и разработать аппаратно-технологическую схему, позволяющую создавать продукты для диетического (лечебно-профилактического) питания из бурых морских водорослей без использования консервантов, антиокислителей, стабилизаторов, ультразвуковой обработки и промышленных ферментов.
2. Разработать способ деструкции клеточной стенки при переработке бурых морских водорослей *Fucus evanescens* и *Laminaria japonica* с сохранением термолабильных нутриентов: сульфатированных полисахаридов (фукоидан), антиоксидантов и витаминов.
3. Создать технологические способы производства, сохраняющие нативную микрофлору продукта, и изучить возможность её использования в качестве фактора консервации.
4. Исследовать состав сульфатированных полисахаридов в конечном продукте.
5. Оценить радиопротекторную и пробиотическую активность продукта.

6. Изучить антиоксидантную активность сырья и конечного продукта.
7. Исследовать механизмы противовирусной активности фукоидана.

Научная новизна исследования

Разработана научная концепция биотехнологии получения продуктов для диетического питания из бурых морских водорослей: Фукус исчезающий (*Fucus evanescens*) и Ламинария японская (*Laminaria japonica*).

Впервые получены продукты для диетического (лечебного и профилактического) питания с высоким содержанием биологически значимых нутриентов без использования физиологически несовместимых веществ и соединений, а также без обработки ультразвуком и использования промышленных ферментов.

Впервые в мире получено изображение взаимодействия фукоидана с вирусом гриппа H5N1. Изучены свойства и стабильность полученного комплекса, что позволяет объяснить механизм противовирусной активности фукоидана.

Проведена оценка суммарной антиоксидантной активности полученных продуктов для диетического (лечебного и профилактического) питания, а также исходного сырья.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии изучен фракционный состав исходного сырья и продуктов для диетического (лечебного и профилактического) питания.

Изучено содержание фукоидана в исходном сырье и продуктах для диетического (лечебного и профилактического) питания. Впервые в мире произведена визуализация методом сканирующей зондовой микроскопии сульфатированного полисахарида фукоидана. Изучена конфигурация и получена функция распределения по массе.

Проведена оценка содержания хлорофиллов и родственных им соединений в продуктах для диетического (лечебного и профилактического) питания на основе бурых морских водорослей

Теоретическая и практическая значимость исследования

Теоретическая значимость работы определяется подобранными технологическими параметрами, позволяющими получать из бурых морских водорослей Фукус исчезающий (*Fucus evanescens*) и Ламинария японская (*Laminaria japonica*) продукты для диетического (лечебного и профилактического) питания с сохранением основных нутриентов, ценнейших полисахаридов и природной микрофлоры. Показано высокое содержание антиоксидантов в продуктах для диетического (лечебного и профилактического) питания из Фукуса исчезающего (*Fucus evanescens*), Ламинарии японской (*Laminaria japonica*), что делает возможным применение этих продуктов для борьбы с окислительным стрессом.

Практическая значимость работы заключается в обоснованном применении продуктов для диетического (лечебного и профилактического) питания, обладающих антиоксидантной, антивирусной, радиопротекторной и пробиотической активностью, эффективных в комплексном лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Методология и методы исследования

Методология соответствует общепринятой схеме поиска биотехнологий при производстве продуктов диетического питания.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Разработаны новые методы и способы получения продуктов из бурых морских водорослей Фукус исчезающий (*Fucus evanescens*) и Ламинария японская (*Laminaria japonica*) для диетического (лечебного и профилактического) питания.

2. Созданные новые технологии производства из бурых морских водорослей продуктов для диетического (лечебного и профилактического) питания обеспечивают сохранение нутриентов, ценнейших полисахаридов и естественной микрофлоры.

3. Подтверждена радиопротекторная и пробиотическая активность предложенных продуктов.

Степень достоверности и апробация результатов

Работа выполнена с применением современных методов биотехнологии, клеточной и молекулярной биологии, в сотрудничестве с ФГБУН Государственный научный центр РФ Институт медико-биологических проблем РАН, г.Москва, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Институт биоорганической химии им. Шемякина и Овчинникова, клиническая база Российского научного центра восстановительной медицины и курортологии Росздрава, Центр материнства и детства г. Хабаровск, Центр гастроэнтерологии Клинической университетской больницы им. Паула Страдыня (г. Рига), Латвийский Центр Морской Медицины (г. Рига). Полученные результаты подтверждены многочисленными экспериментами и обработаны с использованием современных методов статистического анализа.

Материалы исследования, основные результаты и положения диссертации доложены и обсуждены на следующих научных конференциях и симпозиумах: 8й всероссийской научно-практической конференции "Боевой стресс. Медико-психологическая реабилитация лиц опасных профессий" 2008 г.; конференции "Косметическое сырьё. Безопасность и эффективность" 2009 г.; Всероссийском форуме "Здравница 2008" и "Здравница 2005"; Международном конгрессе: «Актуальные проблемы восстановительной медицины, курортологии и физиотерапии», г. Москва, 2005 г.; Всероссийском форуме "Здоровье нации - основа процветания России" 2008 г.; 7-м международном конгрессе "Биотехнология: состояние и перспективы развития" 2009 г.; Международном профессиональном форуме «DAILY BEAUTY» Москва, 14-16 декабря 2008 г.; 8-й международной конференции "Биоантиоксидант" (Москва, 2010 г.); Международном российско-французском симпозиуме, проведенном Обществом врачей восстановительной медицины, Карнак (Бретань) 2011г.; 8-й международной форум-выставке «РосБиоТех» конференции «Функциональные

продукты питания и их роль в обеспечении рационального и сбалансированного питания населения России», Москва, Экспоцентр, 28 октября 2014 г.

По материалам диссертации получено 10 патентов РФ на изобретения и полезные модели. Работа награждена золотой медалью им. И.М. Сеченова за лучшую научную работу Учёным советом Московской Медицинской Академии им. И.М. Сеченова.

Результаты диссертационной работы внедрены в производство. Получены патенты и зарегистрированы ТУ "Водоросли бурые гомогенизированные для диетического (лечебного и профилактического) питания", "Водоросли бурые гомогенизированные со спирулиной и микроэлементами для диетического (лечебного и профилактического) питания". Применение продуктов для диетического (лечебного и профилактического) питания зарегистрировано в качестве новой медицинской технологии в учреждениях амбулаторного и стационарного типа, изданы методические рекомендации для врачей. Продукты зарегистрированы и поставляются, после проведения независимых лабораторных и клинических испытаний, на территорию Европейского союза, Украины. Получено разрешение на поставку в США.

Применение геля из бурых морских водорослей в комплексной терапии заболеваний зарегистрировано в качестве новой медицинской технологии.

Личный вклад автора

Заключается в формулировании проблемы, постановке цели и задач исследования, выборе методологии для решения поставленных задач, планировании и проведении всех экспериментальных исследований в лабораторных и производственных условиях, теоретико-аналитической интерпретации результатов, разработке методических рекомендаций и осуществлении их промышленной апробации. Основные идеи работы, её тема, цель и задачи разрабатывались автором на основании его многолетних исследований

Автору принадлежит аргументация выбора исследования и разработка:

- биотехнологии продуктов из бурых морских водорослей Фукус исчезающий (*Fucus evanescens*) и Ламинария японская (*Laminaria japonica*) для диетического (лечебного и профилактического) питания с сохранением основных нутриентов и природной микрофлоры;
- принципа сохранения основных нутриентов: сульфатированных полисахаридов (фукоидан), антиоксидантов и витаминов природной микрофлоры;
- способа концентрирования водных растворов биологически активных веществ;
- способа получения адаптогена со свойствами сорбента;
- способа повышения эффективности растительных препаратов;
- способ получения биологически активного препарата на основе морского растительного сырья;
- способа производства биологически активных продуктов из бурых водорослей;
- разработанное аппаратное обеспечение получения продукта для диетического (лечебного и профилактического) питания;
- обоснование результатов клинических наблюдений.

Публикации

Основные положения диссертационной работы опубликованы в 35 научных работах, в том числе в 10 статьях и изданиях по перечню, рекомендованному ВАК Минобрнауки России для публикации материалов кандидатских диссертаций. Остальные работы опубликованы в виде 3 коллективных монографий и публикациях в отечественных и зарубежных изданиях.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Биотехнология бурых морских водорослей и её место в комплексной терапии заболеваний человека

Традиционно бурые водоросли используют для производства альгинатов, но это направление не является главным в их переработке. Бурые, зеленые и некоторые красные водоросли широко используются в качестве пищевых продуктов и источника биологически активных веществ [32,33,57,86,119].

В настоящее время получение отдельных биологически активных веществ из водорослей переходит на промышленную основу в связи с целесообразностью их широкого использования для профилактики лечения многих заболеваний [48,135,140].

Из бурых водорослей, кроме альгинатов, получают еще ряд биологически активных компонентов – маннит, ламинаран, фукоидан, йодсодержащие комплексы, минеральные концентраты, концентраты аминокислот или их самостоятельные препараты, например, глутаминовую кислоту [26]. На территории Российской Федерации произрастает около 900 видов водорослей, из которых на долю зеленых приходится 19%, бурых 30 % и красных - 15 % [73]. В таблице 1 перечислены виды бурых водорослей в зависимости от условий их произрастания и содержания альгината (альгиновой кислоты) - важнейшего компонента, определяющей сорбирующие свойства токсинов, солей тяжелых металлов и радионуклидов [42,43,87].

Как видно из Таблицы 1, в сухом веществе *Laminaria japonica* содержится преобладающее количество альгиновой кислоты (от 22,6 до 38,1%) в зависимости от района и стадии развития водорослей.

Laminaria japonica доминирует в нижнебореальной тепловодной подобледи, где расположены Южные Сахалин, остров Кунашир, Шикотан и острова Малой

Курильской гряды. Ламинария японская является основным промысловым видом Приморья. Эти водоросли образуют заросли, преимущественной на глубине от 0,5 до 12 метров. Основные скопления *Laminaria japonica* сконцентрированы в районе от мыса Поворотного до мыса Бычьего, небольшие скопления имеются у островов в Заливе Петра Великого [79].

Таблица 1.

Содержание альгиновой кислоты в бурых водорослях

Вид бурых водорослей	Содержание альгиновой кислоты, % на сухое вещество
<i>Laminaria saccharina</i>	11,8-32,8
<i>Laminaria gurjianovae</i>	15,8 - 30,7
<i>Laminaria angustata</i>	27,9 - 28,1
<i>Laminaria bongardiana</i>	11,8 - 36,6
<i>Laminaria digitata</i>	22,6 - 38,1
<i>Laminaria japonica</i>	27,2 - 33,8
<i>Laminaria cichorioides</i>	27,2 - 33,8
<i>Costauia costata</i>	21,2 - 25,8

На отдельных участках Приморья (с галечным грунтом), на глубинах 10-25 метров, имеются заросли подвида *Laminaria japonica* f. *Longipes*. Поля этой водоросли удалены от берега не менее чем на 500 метров. В Северном Приморье небольшие запасы этого вида отличаются в районе от озера Бурного до мыса Золотого. Вдоль побережья Приморья залежи водорослей распространены нерегулярно. Ламинария японская в смешанных зарослях отличается в виде небольших вкраплений или отдельными пятнами площадью от 5 до 10 м², иногда до 30 м². При этом ламинария не формирует промысловые пояса и только на отдельных участках побережья встречаются редкие, небольшие пятна плотных

поселений с промысловыми характеристиками. Многими исследователями проведена оценка безопасности водорослей [12,31,78].

В таблице 2 перечислены виды бурых водорослей в зависимости от условий их произрастания и содержания альгината (альгиновой кислоты) - важнейшего компонента, определяющего сорбирующие свойства бурых водорослей [4,94,112].

Азотистые вещества представлены 17 аминокислотами, среди которых 7 незаменимых. В процессе обработки ламинарии японской происходит освобождение альгиновой кислоты, которая и определяет основные свойства геля из бурых морских водорослей. Удельный вес альгинатов составляет 35% среди компонентов геля из бурых морских водорослей. Они обладают уникальной сорбирующей способностью, в т.ч. способностью связывать тяжелые металлы, токсические и радиоактивные вещества, образуя с ними сложные комплексы. Поскольку альгинаты в кишечнике не перевариваются и не всасываются, то вещества, связанные с ними, безопасно выводятся из организма.

Таблица 2.

Общий химический состав и количественная характеристика бурых морских водорослей

(Кизеветтер И.В., Суховеева М.В., Шмелькова Л.П.,1981; Суховеева М.В., Подкорытова А.В., 2006)

Наименование веществ	содержание в % на сухое вещество	
	Ламинарии	Фукусы
Альгиновая кислота	15,0-32,6	9,1 - 28,0
Азотистые вещества	6,8 - 15,5	4,6-5,9
Водорослевый крахмал (ламинаран)	8,5 -19,6	до 8,5
Целлюлоза (альгулеза)	5,7-6,2	5,7 - 7,4
Маннит	3,7-28,9	до 2,5
Пентозаны	6,5-10,6	20,5-29,0
Растворимые в эфире вещества	0,3-1,6	0,5-2,2

Поэтому гель из бурых морских водорослей может применяться для ускоренного выведения из организма различных токсических веществ, таких, как свинец, ртуть, кобальт, этанол, а также радиоактивных элементов, производных урана. Это касается не только токсинов, которые проникают в организм человека с пищей и водой, но и других токсических веществ, попадающих в просвет кишечника из органов, тканей, крови [41,54,130].

Морские водоросли аккумулируют из морской воды целый ряд витаминов (А, С, D, В1 В2, В3, В6, В12, К, РР, фолиевую и пантотеновую кислоты), что продемонстрировано в Таблице 3.

В аспекте концепции "здорового человека" (оздоровления с выходом на индивидуальное самосознание, на образ жизни, на оперативный контроль за резервами здоровья, на формирование экономической ценности здоровья, на систему самооздоровления и эффективного применения здоровьесберегающих технологий), восстановительная медицина предоставляет новый раздел медицинской науки, который дополняет уже существующие понятия (от восстановления здоровья у здорового человека до восстановления важнейших функций организма на всех этапах профилактики и медицинской реабилитации) новым содержанием, принципиально иным подходом и оценке, сохранения и поддержании здоровья человека и продления его жизни. Основная цель восстановительной медицины - сохранить резервы здоровья человека, которые, в свою очередь, формируют и обеспечивают созидательную и творческую деятельность человека его активную трудоспособность и возможность организма быстро приспособляться к новым условиям жизнеобитания в процессе трудовой деятельности.

Таблица 3.

Содержание витаминов в бурых морских водорослях (в % сухого остатка)

Витамин	Содержание, %	Витамин	Содержание, %
---------	------------------	---------	------------------

Тиамин (В1)	0,47-0,68	Липоевая кислота	0,06
Рибофлавин (В2)	0,3-0,6	Биотин (Н)	0,03
Пантатеновая кислота (В3)	0,9	Никотинамидниацин (РР или В5)	3,7-5,6
Пиридоксин (В6)	0,3-3	Аскорбиновая кислота (С)	3-362
Фолиевая кислота (В9)	0,06	Каротин (витамин А)	0,24-0,27
Цианокобаламин (В12)	0,3-7,6	Витамин D	0,009-0,01
а-Токоферол (Е)	4,4-5,9	Холин	2,4-62
Инозитол	6-119		

Условия среды обитания человека, экологические и социально-психологические факторы оказывают комплексное воздействие на здоровье человека, влияют на истощение его резервов и соответственно являются причиной многих заболеваний [86,119]. В результате трудоспособное население Российской Федерации абсолютно здоровые (5-7%) и имеющих 1-2 заболевания в состоянии стойкой ремиссии (55-70%) в разных регионах страны, страдает от аллергии, заболеваний кожи, крови, глаз (Разумов А.Н., Вялков А.И., Козлов В.К., Бобровницкий И.П., Михайлов В.И., Подкорытова А.В., Одинец А.Г., Супрун С.В., Тулупов А.М., 2008).

Особую значимость для населения всех возрастных групп имеет оптимизация рациона питания, разработка новых пищевых технологий, которые в малых объемах обеспечивают физиологическую норму и потребность человека

необходимых микро- и макроэлементах, витаминах, аминокислотах и других биологически активных веществах [57,82].

Функциональные нарушения пищеварительного тракта широко распространены. Условно их можно подразделить на верхние (в основном пищевод, желудок и двенадцатиперстная кишка) и нижние (кишечный тракт). Чаще всего диагностируют функциональную диспепсию и синдром раздражённого кишечника. Упомянутое значительно ухудшает качество жизни. Так как этиология и патогенез этих болезней неизвестен, то их лечение симптоматично. Несмотря на как бы «функциональный» характер этих болезней, рассчитанные ежегодные издержки на их лечение, например, в США внушительны: \$5049 на лечение синдрома раздражённого кишечника, \$6140 - поноса, \$7522 – лечение запоров и \$7646 - на лечение боли в животе. В этих случаях функциональной диспепсии рекомендуется курс лечения, направленный на истребление бактерии *H.pylori*, краткосрочный курс препаратов для понижения кислотности, спазмолитики, прокинетики. Лечебный эффект слаб и краткосрочен. Анализ жалоб пациентов показывает, что низкий терапевтический эффект, возможно, связан с тем фактом, что в терапии доминируют в основном медикаменты. Упомянутое также относится и к синдрому раздражённого кишечника, функциональному поносу, запорам.

Одной из дополнительных возможностей лечения могло бы стать диетическое питание. Диетическое питание определено как питание, которое, благодаря специфическому составу или особому производственному процессу, предусмотрено для приёма лицам, у которых нарушен обмен веществ, или лицам, которые, находясь в особом физиологическом состоянии, должны принимать под контролем отдельные питательные вещества. В связи с вышеизложенным, гомогенизированный гель из бурых морских водорослей является продуктом, адекватным для решения проблем оптимизации питания [3,9]. Это натуральный продукт, получаемый из дальневосточных морских водорослей, главным образом из *Laminaria japonica*, имеет в своем составе микро- и макроэлементы (йод,

кальций, цинк, магний, железо, селен и т.д.); витамины, биологически активные вещества, полисахариды - фукоидан, ламинарины, альгинатовые кислоты [81].

В углеводах бурых морских водорослей из класса Sargassum, и фукус (*Fucus vesiculosus*) обнаружены три вышеупомянутых типа полисахарида и почти все бионеорганические элементы, а также витамины (А, К, Е), жирные кислоты и аминокислоты, микроэлементы. Гель из бурых морских водорослей из *Laminaria japonica* - пищевой продукт, который получен путем сложного низкотемпературного гидролиза. Гель из этого вида ламинарии на 92-94 % состоит из воды, 6-8% приходится на сухие вещества, в состав которых входит альгиновая кислота (5-6%) в форме альгината натрия - кальция, клетчатка - 1-1,5%, белок -1%, минеральные микроэлементы [21,27].

Высокотемпературные методы изоляции биологически активных веществ из бурых морских водорослей (микро и макроэлементы, витамины, полисахариды) – неприемлемы, поскольку они приводят к разрушению термолабильных нутриентов и в первую очередь, фукоидана [28,71,164].

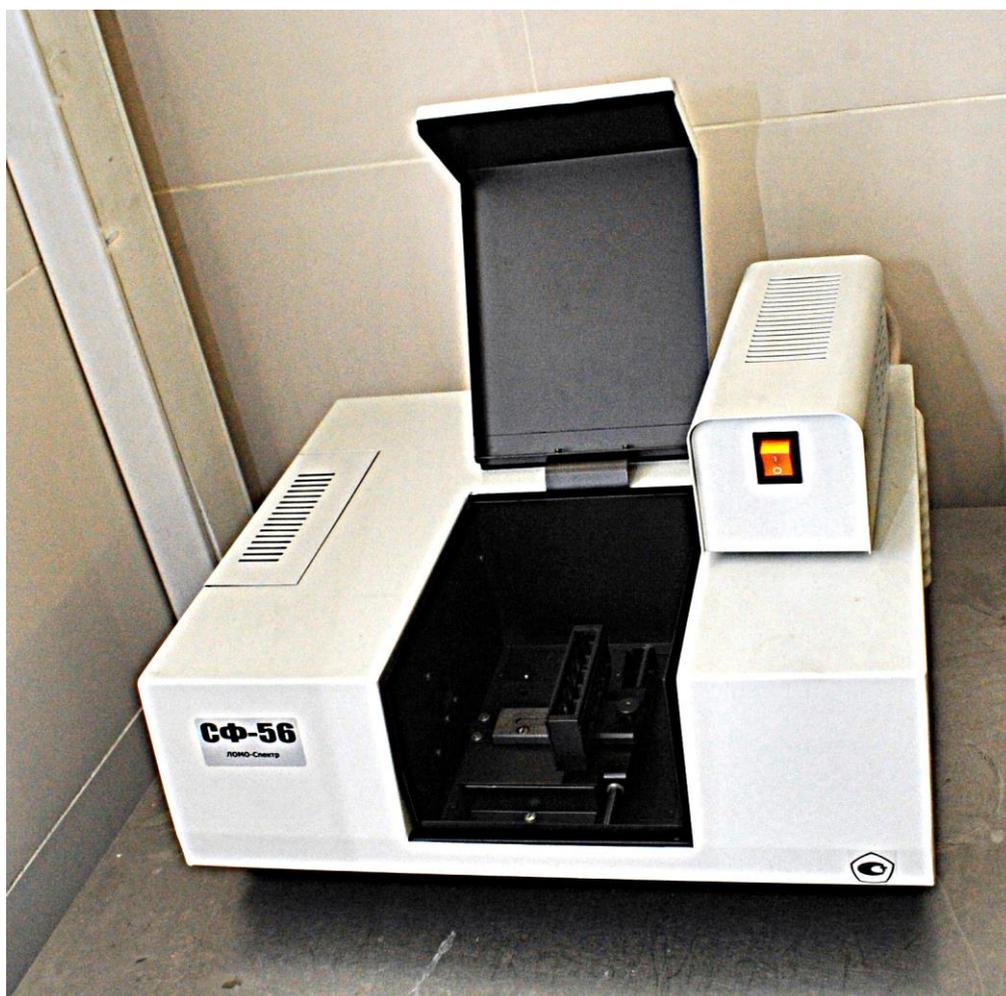
Глава 2. Описание материалов и методов исследования

Исследования проводились в 2000-2010 гг. включительно в сотрудничестве с ФГБУН Государственный научный центр РФ Институт медико-биологических проблем РАН, г.Москва, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Институт биоорганической химии им. Шемякина и Овчинникова, клиническая база Российского научного центра восстановительной медицины и курортологии Росздрава, Центр материнства и детства г. Хабаровск, Центр гастроэнтерологии Клинической университетской больницы им. Паула Страдыня (г. Рига), Латвийский Центр Морской Медицины (г. Рига).

Аппаратное обеспечение технологического процесса: Универсальная микроэмульсионная установка УМУ-1000 (Завод нестандартного технологического оборудования. г. Щёлково).

Микроскопия и контроль деструкции клеток: Исследовательский микроскоп Биомед-6ПР ЛЮМ2.

Измерение концентрации сульфатированных полисахаридов и других нутриентов: Спектрофотометр СФ-56 (Фотография 1, производство: ЛОМО, Россия), предназначенный для измерения спектральных коэффициентов направленного пропускания жидких и твёрдых прозрачных веществ в области спектра от 190 до 1100 нм. Предел допускаемой абсолютной погрешности спектрофотометра при измерении коэффициентов направленного пропускания равен 1нм. Предел допускаемого среднего квадратичного отклонения случайной составляющей погрешности спектрофотометра при измерении коэффициентов пропускания равен 0,1%.



Фотография 1 Спектрофотометр СФ-56

Растворы образцов предварительно центрифугировались на центрифуге Миниспин (Фотография 2) производства Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Гамбург., Германия. при 13400 об/мин, что обеспечивает относительное центробежное ускорение в 12 100g. Центрифугирование производилось в течение 10 минут.



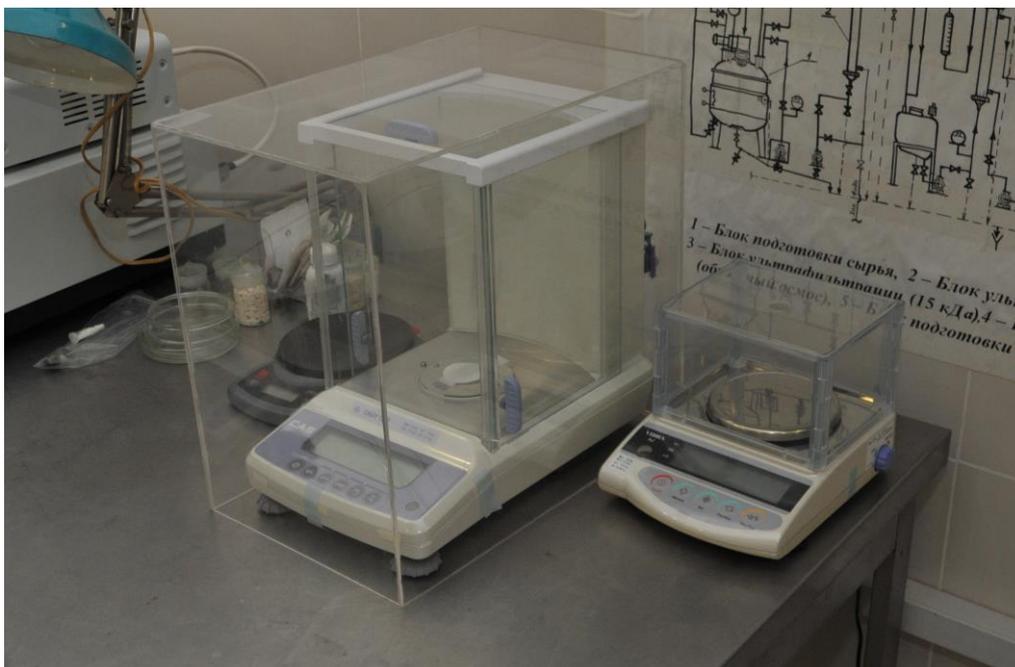
Фотография 2. Центрифуга Миниспин производства Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Гамбург

Для концентрирования образцов применялся роторный испаритель ИКА RV 10 digital (Фотография 3) с водяной баней ИКА НВ digital производства ИКА-Werke GmbH&Co.Kg, Германия, оборудованные мембранным вакуумным насосом KNF N86 KN.18.



Фотография 3. ИКА RV 10 digital ИКА-Werke GmbH&Co.Kg, Германия

Взвешивание проводилось на весах аналитических электронных весах CAS SAUY-120 (Ю.Корея) (Фотография 4) с дискретностью измерений 100мкг, свидетельство о поверке 1003-09495 до 2.11.2011г., а также на лабораторных электронных весах АН-220СЕ с дискретностью измерений 1мг, свидетельство о поверке 559 до 2.06.2011г.



Фотография 4. CAS CAVY-120 (Ю.Корея)

Для проведения настоящей работы использованы: ФУКУС ИСЧЕЗАЮЩИЙ (*FUCUS EVANESCENS*), ЛАМИНАРИЯ ЯПОНСКАЯ (*LAMINARIA JAPONICA*). Регион происхождения - Северные Курилы.

Бурые водоросли (лат. *Phaeophyceae*) — отдел автотрофных хромистов. В жизненном цикле всех представителей присутствуют многоклеточные стадии. Преимущественно морские формы, лишь восемь видов перешли к существованию в пресных водоёмах [35]. Бурые водоросли включают 1500 видов, которые объединены в 265 родов, из которых достаточно известны Ламинария (*Laminaria*) (Рисунок 1), Саргасс (*Sargassum*) и Цистозейра (*Cystoseira*), у которым относятся фукусовые (Фотография 8). Бурые водоросли в хроматофорах содержат бурый пигмент фукоксантин ($C_{40}H_{56}O_6$). Этот пигмент маскирует остальные пигменты. В отличие от других водорослей, для бурых водорослей характерны многоклеточные волоски с базальной зоной роста.

Классификация *LAMINARIA JAPONICA*

Царство:	Хромисты
Тип:	Гетероконтофитовые водоросли
Класс:	Бурые водоросли
Порядок:	<i>Laminariales</i>

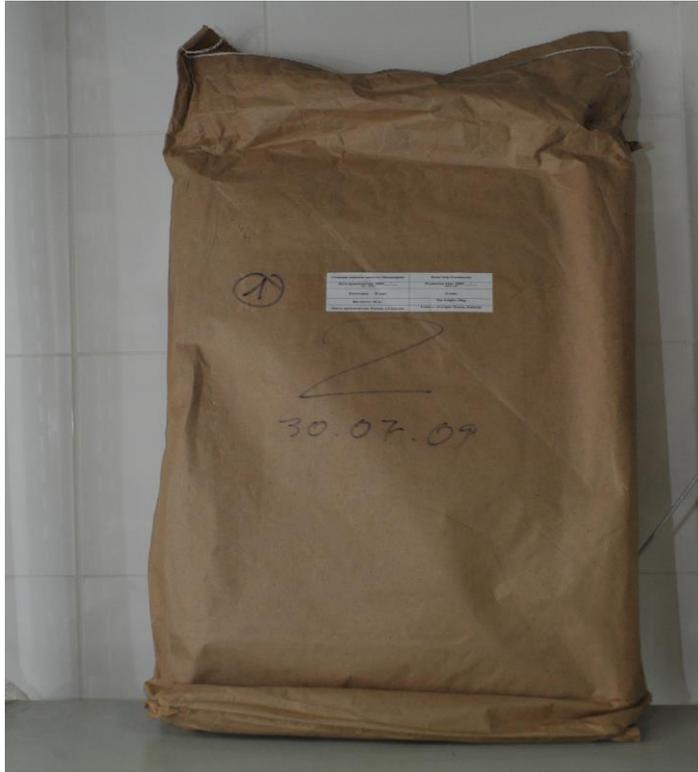
Семейст Ламинариевые

во:

Род: **Ламинария**



Рисунок 1



Фотография 5 . Крафт-

мешок



Фотография 6. Крафт-мешок с сырьем



Фотография 7. Сырье, распакованное из крафт-мешка

Описаны следующие виды ламинарии:

- *Laminaria abyssalis* A.B. Joly & E.C. Oliveira — Southamerican Atlantic^{[1][2]}
- *Laminaria agardhii* Kjellman^[3] — Atlántico de Nortemérica^[4]
- *Laminaria angustata* Kjellman — Japón^{[5][6]}
- *Laminaria appressirhiza* J. E. Petrov & V. B. Vozzhinskaya^[7]
- *Laminaria brasiliensis* A. B. Loly & E. C. Oliveira
- *Laminaria brongardiana* Postels & Ruprecht^[8]
- *Laminaria bulbosa* J. V. Lamouroux
- *Laminaria bullata* Kjellman
- *Laminaria complanata* (Setchell & N. L. Garder) Muenscher
- *Laminaria dentigera* Kjellm. — North American Pacific: the strait of the bering of Baja California;^[9]
- *Laminaria diabolica* Miyabe
- *Laminaria digitata* (Hudson) J. V. Lamouroux
- *Laminaria ephemera* Setchell — Pacific of North America: From

Vancouver to California ^[9]

- *Laminaria farlowii* Setchell — Coast of the North American Pacific ^[9]
- *Laminaria hyperborea* (Gunnerus) Foslie
- *Laminaria inclinorhiza* J. Petrov & V. Vozzhinskaya
- *Laminaria japonica* J. E. Areschoug — Japón ^{[5][10]}
- *Laminaria multiplicata* J. Petrov & M. Suchovejeva
- *Laminaria nigripes* J. Agardh
- *Laminaria ochroleuca* Bachelot de la Pylaie
- *Laminaria pallida* Greville — South Africa, ^[11] Indian Ocean, Canary

Islands and de Tristán da Cunha ^[12]

- *Laminaria platymeris* Bachelot de la Pylaie
- *Laminaria rodriguezii* Barnet
- *Laminaria ruprechtii* (Areschoug) Setchell
- *Laminaria saccharina* (Linnaeus) J.V. Lamouroux
- *Laminaria sachalinensis* (Miyabe) Miyabe
- *Laminaria setchellii* P. C. Silva
- *Laminaria sinclairii* (Harvey ex J. D. Hooker & Harvey) Farlow, Anderson

& Eaton — North American Pacific coast ^[9]

- *Laminaria solidugula* J. Agardh
- *Laminaria yezoensis* Miyabe

Фукус , классификация

Царство: Хромисты

Тип: Гетероконтофитовые водоросли

Класс: Бурые водоросли

Международное научное название

Phaeophyceae R. Wettstein, 1901

Порядки

Аскозейровые (Ascoseirales)

Хордариевые (Chordariales)

Кутлериевые (Cutleriales)

Диктиосифоновые (Dictyosiphonales)

Десмарестиевые (Desmarestiales)

Диктиотовые (Dictyotales)

Хордариевые (Chordariales)

(Discosporangiales)

Эктокарповые (Ectocarpales)

Фукусовые (Fucales)

(Ishigeales)

Ламинариевые (Laminariales)

(Nemodermatales)

(Onslowiales)

(Ralfsiales)

Сцитосифоновые (Scytosiphonales)

(Scytothamnales)

Сфацеляриевые (Sphacelariales)

Спорохновые (Sporochnales)

Тилоптеридовые (Tilopteridales)

(Syringodermatales)



Фотография 8. Фукус пузырчатый

СТРОЕНИЕ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

Среди бурых водорослей отсутствуют одноклеточные и колониальные формы, все особи многоклеточные. Встречаются как однолетние, так и многолетние виды, возраст которых может достигать 15-18 лет [35].

У бурых водорослей талломы могут быть микроскопическими или достигать нескольких десятков метров (например, у *Macrocystis*, *Nereocystis*). Форма талломов самая разнообразная: стелющиеся или вертикально стоящие нити, корочки, пластинки (простые или рассечённые), мешки, ветвящиеся кустики. Прикрепление талломов осуществляется с помощью ризоидов или подошвы. Для удержания в вертикальном положении у ряда бурых водорослей образуются воздушные пузыри, заполненные газом.

Наиболее сложно устроены талломы ламинариевых и фукусовых. Их слоевища имеют признаки тканевой дифференцировки со специализацией клеток. В их талломе можно различить: кору, состоящую из нескольких слоёв интенсивно окрашенных клеток; сердцевину, состоящую из бесцветных клеток, часто собранных в нити. У ламинариевых в сердцевине образуются ситовидные трубки и трубчатые нити. Сердцевина выполняет не только транспортную функцию, но и механическую, так как в ней находятся нити с толстыми продольными стенками. Между корой и сердцевиной у многих бурых водорослей может находиться промежуточный слой из крупных бесцветных клеток. Рост таллома у бурых водорослей чаще всего интеркалярный и апикальный, реже базальный. Интеркалярный рост может быть диффузный или имеется зона роста. У крупных представителей интеркалярная меристема расположена в месте перехода «черешка» в «листовую пластинку». Крупные водоросли также имеют меристематическую зону на поверхности таллома, так называемую меристодерму (своеобразный аналог камбия высших растений). Необычный тип меристемы, который встречается только у некоторых бурых водорослей, — трихоталлическая меристема, развитие клеток которой происходит в основании настоящих волосков. Настоящие волоски размещаются на поверхности меристодермы рассеянно или пучками и часто погружены своим основанием в особые углубления — криптосомы. Клеточная стенка бурых водорослей толстая, двух- или трёхслойная. Внутренний слой содержит преимущественно волокна из целлюлозы, внешний пектиновый слой содержит альгиновую кислоту, её натриевую соль, фукоидан и другие сульфатированные полисахариды [59,111].

Сырьё заготавливалось водолазами в шельфовых водах, сушилось естественным образом и было упаковано в крафт-мешки (Фотографии 5-7). Сырьё соответствует требованиям МУКА И КРУПКА КОРМОВАЯ ВОДОРΟΣЛЕВАЯ Технические условия ГОСТ 22455-77 Дата введения 01.07.78 Настоящий стандарт распространяется на кормовую муку и крупку, изготавливаемые из морских водорослей – фукусов, ламинарий, а также из отходов переработки анфельции, ламинарии, фукусов, фурцеллярии, филлофоры (проэкстрагированных

водорослей) и предназначенные для кормления сельскохозяйственных животных, птиц и прудовой рыбы.

Требования к продукции, направленные на обеспечение ее безопасности для здоровья сельскохозяйственных животных, птиц и прудовой рыбы, изложены в пп. 1.1, 1.2 (показатели «Запах», «Наличие металлопримесей», «Наличие металлических частиц с острыми краями»), разд. 2, 3, пп. 4.2, 4.3 (первый абзац), 4.4 и ветеринарно-санитарных правилах.

(Измененная редакция, Изм. № 2, 3).

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Водорослевую кормовую муку и крупку изготавливают в соответствии с требованиями настоящего стандарта по технологическим инструкциям с соблюдением санитарных норм и правил, утвержденных в установленном порядке.

1.2. По показателям качества водорослевая кормовая мука и крупка должны соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице.

Наименование показателей

Характеристика и норма для муки крупки

Внешний вид

Однородная рассыпчатая, без комков и плесени

Цвет: От желто-зеленого до темно-бурого

Запах:

Специфический, свойственный кормовой муке и крупке из водорослей, без затхлости и посторонних запахов

Крупность помола

Мука должна полностью просеиваться через сито со стороной или диаметром отверстий 0,4 мм. Может быть остаток крупки на сите со стороной или диаметром отверстий 2,0 мм не более 5 %

Массовая доля влаги, % 12,0

Массовая доля золы, в пересчете на сухое вещество, %, не более 35,0

Содержание песка, %, не более 1,0

Наличие металлопримеси, мг/кг, не более:

для кормления сельскохозяйственных животных, прудовой рыбы

100,0

для кормления птицы при размере частиц до 2 мм

200,0

Наличие металлических частиц с острыми краями

Не допускается

Примечания:

1. Для муки и крупки, выработанных из ламинарии, содержание золы должно быть не более 37%.

2. (Исключено, Изм. № 2).

(Измененная редакция, Изм. № 1, 2, 3).

1.3. Требования к сырью

1.3.1. Для изготовления водорослевой кормовой муки и крупки используется сырье, соответствующее требованиям:

фукусы – нормативной документации;

ламинария – нормативной документации.

Могут быть использованы отходы переработки анфельции, ламинарии, фукусов, фуруцеллярии, филлофоры (проэкстрагированных водорослей).

1.3, 1.3.1. (Введены дополнительно, Изм. № 3).

2. ПРАВИЛА ПРИЕМКИ

2.1. Правила приемки – по ГОСТ 20438.

3. МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

3.1. Метод отбора проб – по ГОСТ 13496.0, методы испытаний – по ГОСТ 20438, ГОСТ 26185.

(Измененная редакция, Изм. № 2).

4. УПАКОВКА, МАРКИРОВКА, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

4.1. Водорослевую кормовую муку и крупку упаковывают в:

мешки тканевые по ГОСТ 30090, новые и бывшие в употреблении, с применением мешков-вкладышей из пленочных материалов по нормативной документации или без них, предельной массой продукта 30 кг;

мешки полипропиленовые новые или бывшие в употреблении по нормативной документации, предельной массой продукта 30 кг;

мешки бумажные четырех-, пятислойные марки ПМ по ГОСТ 2226, предельной массой продукта 30 кг;

мешки бумажные четырех-, пятислойные марки НМ по ГОСТ 2226 с применением мешков-вкладышей из пленочных материалов по нормативной документации или без них, предельной массой продукта 30 кг.

Мешки, бывшие в употреблении, должны быть после упаковывания пищевой продукции или кормов прочные, чистые, сухие, с сохранением структуры ткани.

Мешки с водорослевой кормовой мукой и крупкой должны быть защищены машинным или ручным способом нитками по ГОСТ 14961 или шпагатом по ГОСТ 17308 или другой нормативной документации; пакеты пленочные по нормативной документации, бумажные по ГОСТ 13502, предельной массой продукта 5 кг с последующим упаковыванием в мешки или ящики полимерные многооборотные по нормативной документации, предельной массой продукта 30 кг. Пленочные пакеты с мукой и крупкой должны быть укупорены термосваркой, при помощи зажимов или завязаны шпагатом; бумажные пакеты заклеены или защищены нитками.

(Измененная редакция, Изм. № 3).

4.1а. Могут быть использованы другие виды тары и упаковки, которые соответствуют требованиям санитарии, стандартов и технических условий, и обеспечивают сохранность и качество продукции при транспортировании и хранении.

(Введен дополнительно, Изм. № 3).

4.2. Маркируют тару с водорослевой кормовой мукой и крупкой по ГОСТ 7630. На тару с мукой или крупкой, содержащей металлопримесей от 100 до 200 мг на 1

кг продукции, наносят предупредительную надпись: «Годна исключительно для птицы». Транспортная маркировка – по ГОСТ 14192 и ГОСТ 7630.

(Измененная редакция, Изм. № 2).

4.3. Водорослевую кормовую муку и крупку транспортируют транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок грузов, действующими на транспорте данного вида.

Пакетирование – по ГОСТ 23285, ГОСТ 21650, ГОСТ 26663, ГОСТ 24597.

(Измененная редакция, Изм. № 2, 3).

4.4. Водорослевую кормовую муку и крупку хранят в чистом, сухом, хорошо вентилируемом помещении, без резких колебаний температуры. Мешки с продукцией должны быть защищены от воздействия прямых солнечных лучей и источников тепла.

Срок хранения – 6 мес. С даты изготовления.

Методы анализа. По ОКСТУ 9254.

1. МЕТОДЫ ОТБОРА И СОСТАВЛЕНИЯ ПРОБ.

1.1. Отбор и составление проб по ГОСТ 20438 75 и ГОСТ 13496.0 80.

1.2. Составление средней пробы кулинарных изделий и полуфабрикатов. Среднюю пробу неизмельченных кулинарных изделий и полуфабрикатов составляют в виде трех кусков массой до 0,2 кг в каждом, а измельченных три пробы массой до 0,1 кг в каждой. Из замороженных в фасованном виде кулинарных изделий и полуфабрикатов отбирают по одной коробке от партии.

2. ПОДГОТОВКА СРЕДНЕЙ ПРОБЫ К АНАЛИЗУ.

2.1. Подготовка к анализу средней пробы по ГОСТ 20438 75.

2.2. Из средней пробы морской травы, предназначенной для анализа, отбирают 100 листьев для определения их прочности, а оставшуюся часть измельчают на кусочки длиной от 1 до 2 см.

2.3. Среднюю пробу, составленную из кулинарных изделий и полуфабрикатов, измельчают мясорубкой, перемешивают и в количестве 300 – 500 г помещают в широкогорлую банку, которую плотно закрывают крышкой.

3. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МОРСКИХ ВОДОРОСЛЕЙ (СЫРЦА, МОРОЖЕННЫХ И СУШЕНЫХ) И МОРСКИХ СУШЕНЫХ ТРАВ.

3.1. Подготовка средней пробы к анализу по пп. 2.1 и 2.2.

3.2. Определение массовой доли воды высушиванием при температуре 100 – 105 °С.

3.2.1. Сущность метода.

Метод основан на выделении (испарении) воды из продукта при тепловой обработке и определении изменения его массы взвешиванием.

3.9.1. Аппаратура, материалы.

Весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по ГОСТ 24104 88.

Шкаф сушильный по ОСТ 16.0.801.397 87. Эксикатор по ГОСТ 25336 82.

Термометр ртутный стеклянный лабораторный по ГОСТ 215 73 с пределами измерений от 0 до 200 °С.

Стаканчики для взвешивания (бюксы) по ГОСТ 25336 82.

Чашки фарфоровые по ГОСТ 9147 80.

3.9.2. Проведение анализа.

В чистую сухую предварительно взвешенную бюксу со стеклянной палочкой, при помощи которой распределяют навеску продукта в бюксе ровным тонким

слоем, отвешивают от 2 до 5 г продукта с абсолютной погрешностью не более 0,001 г. Навеску филлофоры, зостеры 100 г отвешивают с абсолютной погрешностью не более 0,1 г.

После этого бюксу с открытой крышкой помещают в сушильный шкаф температурой 102 – 105 °С. Через 2 – 4 ч бюксу вынимают из сушильного шкафа, закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

Последующие взвешивания проводят после выдерживания в сушильном шкафу в течение 1 ч до тех пор, пока разность между последовательными взвешиваниями не окажется равной или меньше 0,001 г.

Примечание. Если при одном из взвешиваний в процессе высушивания будет установлено увеличение массы, для расчета используют результаты предыдущего взвешивания.

3.9.3. Обработка результатов.

Массовую долю воды в продукте (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{(m_1 - m_2) * 100}{m_1 - m},$$

где T – масса пустой бюксы (с палочкой), г;

T_1 – масса бюксы (с палочкой) с продуктом до высушивания, г;

T_2 – масса бюксы (с палочкой) с продуктом после высушивания, г.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождение между которыми не должны превышать 0,5 %. Вычисление проводят до первого десятичного знака.

3.3. Определение массовой доли золы.

3.3.1. Сущность метода.

Метод основан на сжигании образца, удалении органических веществ из навески и определении золы взвешиванием.

3.9.4. Аппаратура, материалы.

Весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по ГОСТ 24104 80.

Тигли фарфоровые по ГОСТ 9147 80.

Эксикатор по ГОСТ 25336 82.

Электроплитка бытовая по ГОСТ 14919 83.

Электродпечь сопротивления лабораторная по ОСТ 16.0.801.397 87.

3.9.5. Проведение анализа.

В предварительно прокаленный до постоянной массы фарфоровый тигель отвешивают от 1,5 до 2 г продукта с абсолютной погрешностью не более 0,001 г. Тигель с навеской помещают на электрическую плитку и осторожно обугливают, а затем озоляют в муфельной печи при темно-красном калении (температура 450 – 500 °С) до однородного цвета золы без темных вкраплений и до постоянной массы.

3.9.6. Обработка результатов.

Массовую долю золы в продукте (X_1) в процентах, в пересчете на сухое вещество, вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{(m_{22} - m_{20}) * 100 * 100}{(m_{21} - m_{20}) * (100 - m_{23})},$$

где T_0 – масса пустого тигля, г;

T_1 – масса тигля с продуктом, г;

T_2 – масса тигля с золой, г;

T_3 – массовая доля воды в продукте, %.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2 %. Вычисление проводят до второго десятичного знака.

3.4. Определение массовой доли общего азота.

3.4.1. Сущность метода.

Метод основан на окислении органического вещества при сжигании его в серной кислоте в присутствии катализатора, отгоне образующегося аммиака и улавливании его титрованным раствором серной кислоты с последующим обратным титрованием избытка ее. По количеству связанной аммиаком кислоты судят о массовой доле азота в навеске исследуемого образца.

3.9.7. Аппаратура, реактивы и материалы.

Весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по ГОСТ 24104 88.

Электроплитка бытовая по ГОСТ 14919 83.

Холодильник стеклянный лабораторный по ГОСТ 25336 82.

Колбы для сжигания по ГОСТ 25336 82, вместимостью 100, 250 см³.

Колбы плоскодонные или круглодонные по ГОСТ 25336 82, вместимостью от 500 до 750 см³.

Пробирки стеклянные по ГОСТ 25336 82.

Воронки стеклянные по ГОСТ 25336 82.

Бюретки по ГОСТ 29252 91, вместимостью 25 см³.

Насадка-каплеуловитель по ГОСТ 25336 82.

Пемза.

Бумага лакмусовая.

Кислота серная по ГОСТ 4204 77, концентрированная и раствор 0,05 моль/дм³ (0,1 н).

Натрия гидроксид по ГОСТ 4328 77, раствор 330 г/дм³ (33 %-ный).

Натрия гидроксид по ГОСТ 4328 77, раствор 0,1 моль/дм³ (0,1 н).

Медь серноокислая 5-водная по ГОСТ 4165 78.

Калий серноокислый по ГОСТ 4145 74.

Метиловый красный по ГОСТ 5853 51, спиртовой раствор 0,02 г/дм³ (0,002 %-ный).

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 72.

3.9.8. Проведение испытания.

Навеску тщательно измельченного продукта массой от 0,5 до 1 г взвешивают с абсолютной погрешностью не более 0,001 г и осторожно вносят в колбу для сжигания вместимостью от 100 до 250 см³, стараясь не задеть горлышка. В колбу

прибавляют 10 см^3 серной кислоты, $0,5 \text{ г}$ сернокислой меди и от $0,5$ до $1,0 \text{ г}$ сернокислого калия или другого катализатора.

Колбу закрывают насадкой Кьельдаля и осторожно, во избежание потерь, нагревают на электроплитке под тягой. Когда образование пены уменьшится, нагревание постепенно усиливают, периодически взбалтывая содержимое колбы. Нагревание прекращают, как только содержимое колбы станет прозрачным и примет зеленовато-голубой цвет. Внутренние стенки колбы должны быть совершенно чистыми.

После охлаждения в колбу приливают небольшое количество дистиллированной воды, содержимое взбалтывают и количественно переносят через воронку в колбу для отгона вместимостью от 500 до 700 см^3 . Для устранения толчков при кипении в колбу для отгона помещают пемзу. Колбу для сжигания несколько раз ополаскивают небольшими порциями воды (общий объем $200 - 250 \text{ см}^3$). Промывные воды переносят в колбу для отгона, соединенную с каплеуловителем. Колбу с каплеуловителем присоединяют к холодильнику. Приемником служит коническая колба вместимостью от 250 до 500 см^3 , в которую из бюретки приливают 50 см^3 раствора $0,05 \text{ моль/дм}^3$ серной кислоты и от 3 до 5 капель метилового красного в качестве индикатора. Конец трубки холодильника погружают в серную кислоту.

Когда прибор собран, в колбу для отгона приливают раствор 330 г/дм^3 гидроксида натрия, от 50 до 60 см^3 на каждые 10 см^3 серной кислоты, взятой для сжигания. Гидроксид натрия приливают осторожно по стенке, поддерживая колбу в наклонном положении. При этом гидроксид натрия стекает на дно, не смешиваясь с жидкостью. Этим устраняется опасность потери аммиака.

Колбу для отгона быстро закрывают пробкой, соединенной с насадкой, осторожно перемешивают содержимое и нагревают.

Не допускается ослаблять нагревание во время отгонки во избежание обратного вытягивания жидкости из приемника.

Отгоняют не менее 2/3 содержимого колбы. Момент окончания отгонки определяют по красной лакмусовой бумаге. По окончании отгонки нагревание прекращают, отнимают приемник и конец трубки холодильника или форштосса обмывают дистиллированной водой из промывной склянки. Содержимое приемной колбы титруют раствором 0,1 моль/дм³ гидроокиси натрия. Необходимо проведение контрольного опыта, который ведут так же, как описано выше, но без навески продукта.

3.9.9. Обработка результатов.

Массовую долю общего азота в продукте (X_2) в процентах, в пересчете на сухое вещество, вычисляют по формуле

$$X_2 = \frac{(V - V_1) * K * 0,0014 * 100 * 100}{m * (100 - m_1)},$$

где V – объем раствора 0,1 моль/дм³ (0,1 н) гидроксида натрия, израсходованный на титрование серной кислоты в контрольном опыте, см³;

V_1 – объем раствора 0,1 моль/дм³ (0,1 н) гидроксида натрия, израсходованный на титрование избытка серной кислоты в рабочем опыте, см³;

K – коэффициент пересчета на точный раствор 0,1 моль/дм³ гидроксида натрия;

0,0014 – количество азота, эквивалентное 1 см³ раствора 0,1 моль/дм³ (0,1 н) гидроксида натрия, г;

m_1 – массовая доля воды в продукте, %;

T – масса образца, г.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,2 %. Вычисление проводят до второго десятичного знака.

3.5. Определение массовой доли посторонних примесей (балласта) в воздушно-сухих водорослях и травах.

3.5.1. Сущность метода.

Метод основан на механическом отделении посторонних примесей (балласта) и весовом определении их массы.

3.9.10. Аппаратура, материалы.

Весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по ГОСТ 24104 88.

Пинцет по ГОСТ 21241 89.

Бумага белая.

3.9.11. Проведение анализа.

500 г ламинарии, 200 г морской травы, филлофоры, фукусов или 100 г фурцеллярии, анфельции, отвешенных с абсолютной погрешностью не более 0,1 г, помещают на лист чистой белой бумаги. Тщательно пинцетом выбирают посторонние водоросли, ракушки, вытряхивают песок и другие примеси и взвешивают их.

3.9.12. Обработка результатов.

Массовую долю посторонних примесей балласта (X_3) в процентах вычисляют по формулам

$$X_3 = \frac{m_1 * 100}{m} \quad (\text{на сырое вещество}) \text{ или}$$

$$X'_3 = \frac{m_1 * 100 * 100}{m * (100 - m_2)} \quad (\text{на сухое вещество}),$$

где T_1 – масса посторонних примесей (балласта), г;

T – масса исследуемого образца, г;

T_2 – массовая доля воды, %.

Массовую долю посторонних водорослей и водных растений (X_4) в процентах вычисляют по формуле

$$X_4 = \frac{m_2 * 100}{m_3},$$

где T_2 – масса посторонних водных растений и водорослей, г;

T_3 – масса сырья, г.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений.

Вычисление проводят до первого десятичного знака.

3.6. Определение массовой доли посторонних примесей в филлофоре-сырце.

3.6.1. Сущность метода.

Метод основан на механическом отделении примесей и весовом определении их после промывки водорослей.

3.9.13. Аппаратура, материалы.

Весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по ГОСТ 24104 88.

Кристаллизаторы по ГОСТ 25336-82.

Воронки стеклянные по ГОСТ 25336 82, диаметром 70 90 мм.

Чашки Петри по ГОСТ 25336 82.

Стаканчики для взвешивания (бюксы) по ГОСТ 25336 82.

Ножницы медицинские по ГОСТ 21239 93.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026 76 или фильтры бумажные.

Вода питьевая по ГОСТ 2874 82.

3.9.14. Проведение анализа.

Навеску водорослей 100 г для филофоры ребристой широкочленистой и шаровидной формы и 500 г филофоры Броди отвешивают с абсолютной погрешностью не более 0,1 г, перебирают, удаляют ракушки, посторонние водоросли и другие крупные примеси. Филлофору Броди отстригают ножницами от мидиевой ракушки в месте ее прикрепления, сохраняя на ракушке остатки слоевищ длиной не более 2 мм.

Отделенные посторонние примеси взвешивают с абсолютной погрешностью не более 0,1 г.

Навеску водоросли помещают в кристаллизатор с водопроводной водой и тщательно промывают в течение 20 – 30 мин при соотношении водоросли и воды 1:10. Промывку повторяют три раза.

Количество воды и водорослей рассчитывают с учетом массы отобранных посторонних примесей. Промывные воды собирают, измеряют объем и фильтруют. Параллельно проводят контроль – фильтруют равный объем водопроводной воды.

Жидкости дают стечь с фильтров в течение 30 мин; фильтры переносят на предварительно высушенные до постоянной массы чашки Петри или бюксы и взвешивают с абсолютной погрешностью не более 0,1 г.

3.9.15. Обработка результатов.

Массовую долю механических примесей (X_5) в процентах вычисляют по формуле

$$X_5 = \frac{m_{21} + (m_{22} - m_{23})}{m} * 100$$

где m – масса водоросли, г;

m_1 – масса механических примесей, отделенных до промывки, г;

T_2 – масса влажного фильтра с остатком, г;

T_3 – масса влажного фильтра, г.

3.7. Определение массовой доли песка.

3.7.1. Сущность метода.

Метод основан на разрушении органических веществ продукта соляной кислотой и отмывании песка водой.

3.9.16. Аппаратура, реактивы и материалы.

Весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по ГОСТ 24104 88.

Эксикатор по ГОСТ 25336-82.

Тигли фарфоровые по ГОСТ 9147 80.

Пипетки по ГОСТ 29169 91, вместимостью 5 и 10 см³.

Палочки стеклянные.

Стекло часовое, диаметром от 70 до 80 мм.

Стаканы стеклянные лабораторные по ГОСТ 25336 82, вместимостью от 150 до 200 см³.

Фильтры обеззоленные.

Кислота соляная по ГОСТ 3118 77, разведенная в отношении 1:1.

3.9.17. Проведение анализа.

Навеску образца 20 г, отвешенную с абсолютной погрешностью не более 0,01 г, помещают в химический стакан вместимостью от 150 до 200 см³, наливают от 40 до 50 см³ соляной кислоты (1:1) и нагревают до кипения, непрерывно помешивая, пока масса в стакане перестанет вспучиваться.

Стакан накрывают часовым стеклом и оставляют кипеть в течение 15 мин.

Прекратив нагревание, стакан доливают водой почти доверху, энергично размешивают содержимое стеклянной палочкой и оставляют в покое на 3 – 5 мин, после чего приступают к отмыванию песка.

К водопроводному крану или большой бутылке с водой присоединяют стеклянную трубку с шаровидным расширением в середине и оттянутым концом

диаметром отверстия от 1 до 2 мм (удобно пользоваться пипеткой Мора вместимостью от 5 до 50 см³). В расширение трубки вкладывают кусочек ваты в качестве фильтра и устанавливают с помощью крана или зажима ток воды скоростью от 150 до 170 см³/мин.

Отрегулировав скорость тока воды, подставляют под струю стакан с частично разрушенной продукцией, погружают трубку до половины его высоты (от 4 до 5 см от его дна) и приступают к отмыванию пробы. Слив воды происходит через край стакана.

Продолжительность отмывания около 20 мин. На дне стакана остается песок и небольшое количество крупных частиц не до конца разрушенной продукции. Для удаления этих частиц осадок заливают от 25 до 30 см³ насыщенного раствора поваренной соли, перемешивают и, дав песку осесть на дно, осторожно сливают жидкость вместе со взвешенными частицами продукции. Обработку раствором соли повторяют три-четыре раза до прекращения всплывания частиц продукции.

Осадок песка в стакане промывают таким образом два-три раза водой и количественно переносят на обеззоленный фильтр. Фильтр с осадком прокаливают (во взвешенном тигле) в муфельной печи при температуре 450 °С в течение 15 мин, охлаждают и взвешивают с абсолютной погрешностью не более 0,01 г.

3.9.18. Обработка результатов.

Массовую долю песка (X_6) в процентах вычисляют по формуле

$$X_6 = \frac{(m_2 - m_1) * 100}{m},$$

где T_2 – масса тигля с песком после прокаливания, г;

m_1 – масса пустого тигля, г;

T – масса продукта, взятого для испытания, г.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,1 %. Вычисление проводят до первого десятичного знака.

3.8. Определение прочности листа морской сушеной травы.

3.8.1. Сущность метода.

Метод основан на определении усилия, необходимого для разрыва листа морской сушеной травы.

3.9.19. Аппаратура и материалы.

Штатив лабораторный в комплекте. Зажим кровоостанавливающий зубчатый. Гири общего назначения по ГОСТ 7328 82.

3.9.20. Проведение анализа.

Для анализа применяют устройство (Рисунок 2), состоящее из штатива двух зажимов и гирек, дополняющих массу нижнего зажима. Концы листа закрепляются в зажимах на глубину 15 мм. Расстояние между зажимами должно быть равным 20 см. Подняв верхний зажим и придав траве вертикальное положение, к нижнему зажиму прикрепляют груз массой 700 г при испытании филоспадикса и массой 300 г при испытании листьев зостеры.

Партию считают качественной, если 75 % образцов, подвергшихся испытанию, выдерживают минимально допустимую нагрузку.

3.10. Определение массовой доли альгиновой кислоты.

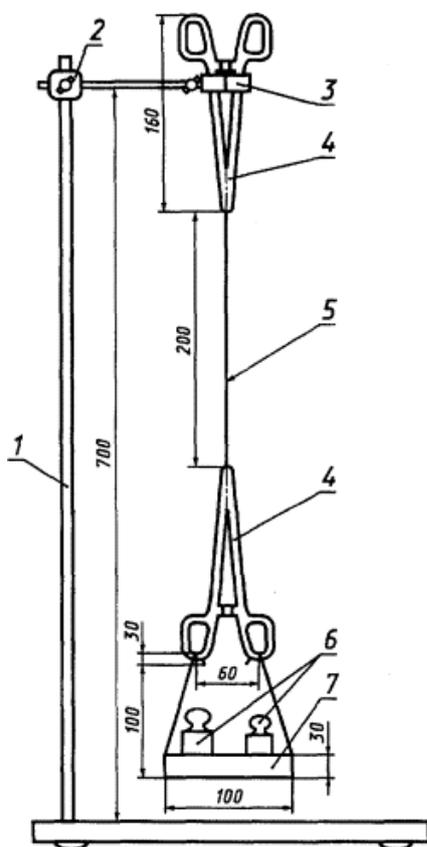


Рисунок 2. Устройство

3.9.1. Сущность метода.

Метод основан на обратном титровании серной кислотой избытка гидроксида натрия, оставшейся после взаимодействия ее с альгиновой кислотой, содержащейся в исследуемом образце.

3.9.2. Аппаратура, реактивы и материалы.

Весы аналитические класса 2 с пределами измерений от 0 до 200 г по ГОСТ 24104-88.

Фильтры стеклянные с пористой пластиной 1 по ГОСТ 25336-82.

Цилиндры мерные лабораторные стеклянные или мензурки по ГОСТ 1770 74, вместимостью 150 и 500 см³.

Палочки стеклянные по ГОСТ 25336 82.

Стекло часовое диаметром от 60 до 70 мм.

Кислота соляная по ГОСТ 3118 77, раствор 5 г/дм³ (0,5 %-ный).

Кислота серная по ГОСТ 4204 77, раствор 0,05 моль/дм³ (0,1 н).

Натрия гидроксид по ГОСТ 4328 77, раствор 0,1 моль/дм³ (0,1 н).

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962-67.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 72, свежeproкипяченная.

Фенолфталеин, спиртовой раствор 1 -- 10 г/дм³ (0,1-1 %-ный).

Метилловый оранжевый, раствор 1 г/дм³ (0,1 %-ный).

Рассев-анализатор лабораторный (РА-5) или комплект сит для разделения сыпучих веществ.

3.9.3. Проведение анализа.

1 -- штатив; 2 -- муфта; 3 -- зажим; 4 -- зажим с кремальерой; 5 -- лист филлоспадикса или зостеры; 6 -- груз; 7 -- квадратная коробка с проволочными крючками (для груза).

Рисунок 2

Для определения берут фракцию водорослей, прошедшую через сито со стороны отверстия 0,5 мм и оставшуюся на сите со стороны отверстия 0,25 мм.

0,5 г исследуемого образца, отвешенных с абсолютной погрешностью не более 0,001 г, помещают в коническую колбу вместимостью 150 см³, наливают 20 см³ раствора 5 г/дм³ соляной кислоты, экстрагируют при комнатной температуре три раза по 30 мин. Кислоту сливают через стеклянный пористый фильтр осторожно, не перенося частичек водорослей. Во время кислотной обработки содержимое

колбочки через каждые 5 -- 10 мин перемешивают стеклянной палочкой. После обработки кислотой осадок промывают три раза декантацией дистиллированной водой температурой 20 °С -- 40 °С, каждый раз с предварительным настаиванием в течение 20 мин. Затем осадок промывают без настаивания три раза этиловым спиртом крепостью не ниже 60°, используя по 20 см³ на каждую промывку. После спирта промывают один раз 40 см³ дистиллированной воды и проводят испытание на кислотность промывной воды, применяя индикатор метилоранж. Далее продолжают промывку дистиллированной водой до отрицательной реакции на кислоту по метилоранжу.

Промытый осадок количественно переносят обратно в коническую колбу и заливают 20 см³ свежeproкипяченной охлажденной дистиллированной воды. В колбу прибавляют 5 -- 6 капель фенолфталеина и раствора 0,1 г/дм³ гидроксида натрия в количестве, равном массе абсолютно сухой навески водоросли, умноженной на коэффициент от 20 до 50.

Колбу закрывают часовым стеклом, выдерживают 1 ч при периодическом перемешивании до получения вязкой массы, после чего оттитровывают избыток гидроксида натрия раствором 0,05 моль/дм³ серной кислоты.

Примечания:

1. Одновременно с определением массовой доли альгиновой кислоты определяют массовую долю воды в водоросли.
2. При установлении титра гидроксида натрия следует использовать тот же индикатор, что и при титровании альгиновой кислоты.
3. Для фильтрования допускается использование воронки с бумажным фильтром (белая или красная лента).

3.9.4. Обработка результатов.

Массовую долю альгиновой кислоты (X_7) в процентах, в пересчете на сухое вещество, вычисляют по формуле

$$X_7 = \frac{(V_2 * K - V_1) + 0,01805 * 100 * 100}{m * (100 - m)},$$

где V_2 -- объем добавленного раствора 0,1 моль/дм³ (0,1 н) гидроокиси натрия, см³;

V_1 -- объем раствора 0,05 моль/дм³ (0,1 н) серной кислоты, израсходованный на титрование избытка гидроксида натрия, см³.

K коэффициент пересчета на точный раствор 0,1 моль/дм³ (0,1 г) гидроксида натрия;

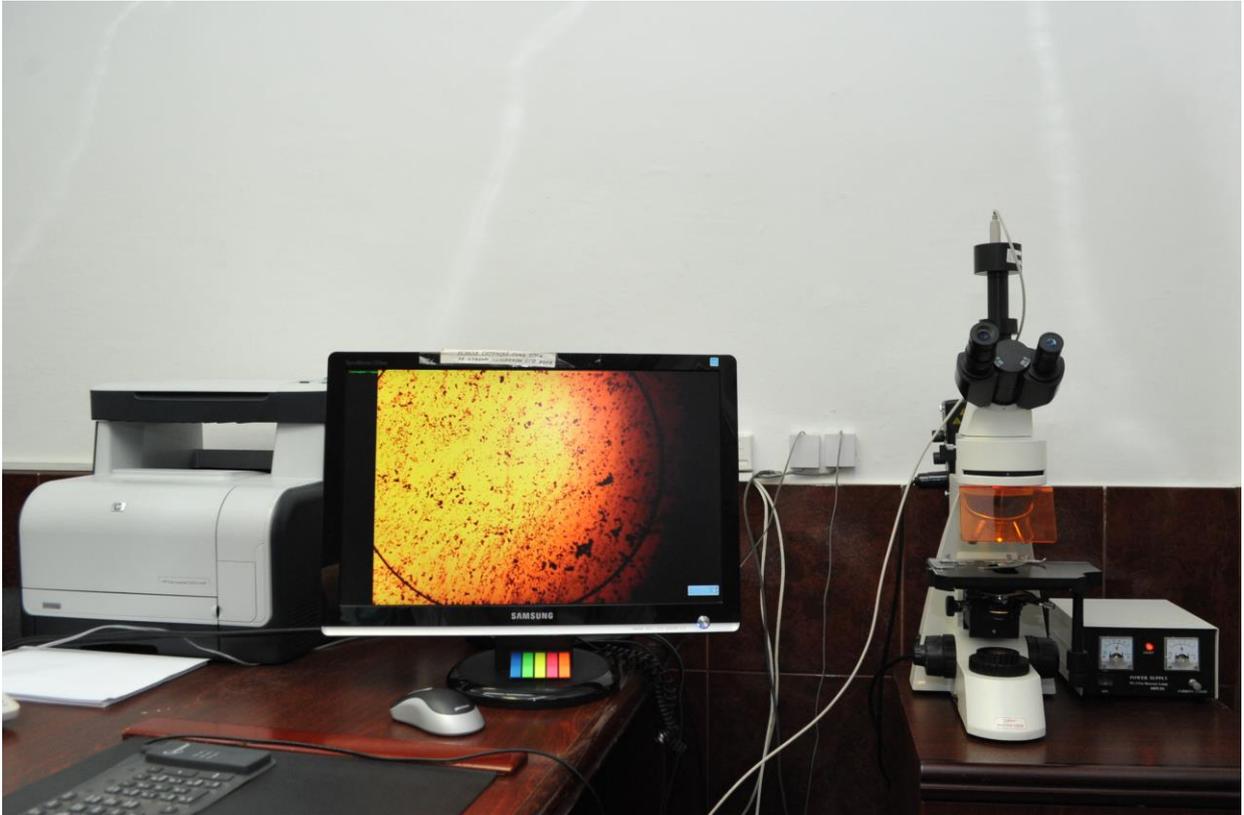
T масса исследуемых водорослей, г;

T_1 -- массовая доля воды в исследуемом образце, %;

0,01805 количество альгиновой кислоты, соответствующее 1 см³ раствора 0,1 моль/дм³ гидроксида натрия, г.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,5 %. Вычисления проводят до первого десятичного знака.

Визуализация процессов гидролиза сырья производилось с использованием аппаратно-программного комплекса LaborMicroscopes (Россия, Санкт-Петербург), позволяющего получать в виде компьютерного файла изображения до 2000-крат в различных режимах (поляризация, тёмное и светлое поле, люминесценция в 5 диапазонах и т.д.) (Фотография 9).

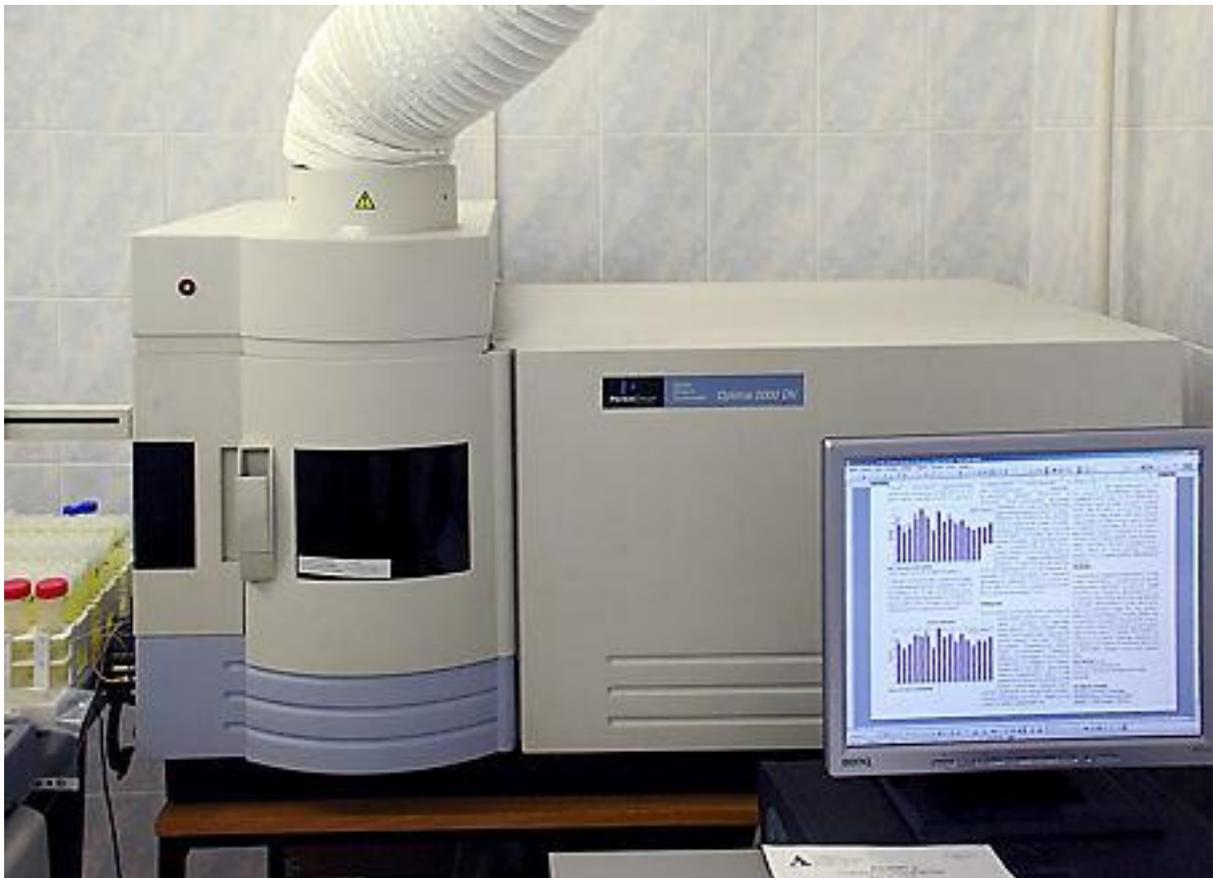


Фотография 9. Аппаратно-программный комплекс LaborMicroscopes (Россия, Санкт-Петербург)

Измерение содержания микро- и ультрамикроэлементов: ИСП-АЭС спектрометр Optima 2000 DV (PerkinElmer, США) (Фотография 10) Методика основана на окислительно-кислотной "мокрой" минерализации проб исследуемых биосубстратов и препаратов и на последующем анализе ее на требуемые химические элементы методом атомно-эмиссионной спектроскопии с использованием в качестве источника возбуждения высокочастотной индуктивно связанной аргоновой плазмы.

Цель пробоподготовки состоит в переведении пробы в растворенную форму, удобную для ввода в спектрометр. Переведение в раствор достигается обработкой проб концентрированной азотной кислотой при открытом и автоклавном разложении. Полного предварительного разрушения органической матрицы не требуется, поскольку это не сказывается на протекающей в плазме при высокой температуре атомизации пробы и на

процессах возбуждения эмиссионных спектров атомов определяемых элементов. Применение схемы последовательного сканирования позволяет задавать необходимый список требуемых спектральных линий, отвечающих определяемым элементам. Интенсивность спектральной линии элемента определенным образом связана с его концентрацией в пробе, что позволяет с использованием сопровождающего спектрометр программного обеспечения получать надежные градуировочные характеристики, прямо пропорциональные в интервале пяти - шести порядков. Гарантируемая величина пределов обнаружения, достигаемых на спектрометрах такого класса, составляет доли мкг/л. Сочетание высокой избирательности и последовательного по длинам волн способа измерений позволяет определять до 20 - 30 элементов из одной подготовленной пробы в течение 4–5 минут.



Фотография 10. ИСП-АЭС спектрометр Optima 2000 DV (PerkinElmer, США)

Визуализация полисахаридов: Solver P-47 bio фирмы «НТ-МДТ» (Россия) (Фотография 11), АСМ- изображения в прерывисто-контактном режиме, с использованием сверхострых кантилеверов высокого разрешения производства «Нанотюнинг». (<http://www.nanotuning.com>, Россия).



Фотография 11. Solver P-47 bio фирмы «НТ-МДТ» (Россия),

ЗМ СОЛВЕР Р47-PRO - это универсальный прибор для комплексных исследований различных объектов с высоким разрешением на воздухе, в жидкостях и контролируемой газовой атмосфере, при температуре до 150 С. Конструкция прибора гарантирует максимальную точность измерений и большое число СЗМ измерительных методик. Эта модель может быть успешно использована как в маленьких компаниях и университетских лабораториях, так и в больших исследовательских центрах

- Собственная система виброизоляции для получение сверх-высокого разрешения без дополнительной виброзащиты (вплоть до атомарного)
- Сканирующая Туннельная Микроскопия, Атомно-Силовая Микроскопия и Shear Force (позволяет использовать оптическое волокно в качестве зондового датчика) в одном приборе.

- Работа в жидкостях, в контролируемой газовой среде и при температурах до 150°C.
- Интерактивная система управления и программная настройка режимов работы и функциональной схемы прибора.
- Возможность сохранения настроек в отдельных файлах позволяет начинающему пользователю работать с использованием практически всех современных методов сканирующей зондовой микроскопии.
- Опытный пользователь может разрабатывать и реализовывать свои собственные методики, в том числе многопроходные.

Технические характеристики

Размер образца	40x40x10мм 3x3x1 мкм (±10%)
Сканеры	10x10x2 мкм (±10%) 50x50x3 мкм (±10%)
Минимальный шаг сканирования	0.0004 нм; 0.0011 нм; 0.006 нм
Способ сканирования	Образцом АФМ СТМ
СЗМ головки	30 пА-50 нА, СКВ шум 4 пА (стандартный предусилитель) 10 пА-5 нА, СКВ шум 1,5 пА (низкотоковый предусилитель) Shear Force
Оптическая система	Числовая апертура 0,1 Увеличение с 58x до 578x

Горизонтальное поле зрения от 5,1 до 0,51 мм

Система контроля и
управления

СЗМ контроллер

Вибрационная
изоляция

Встроенная пассивная изоляция Активная
антивибрационная система доступна по требованию

Методики Измерений

На воздухе: СТМ/ Низковольтная СТМ/ Туннельная Спектроскопия/Контактная АСМ/МЛС/Резонансная АСМ (полуконтактная + безконтактная)/Метод отображения Фазы/Метод модуляции силы/Изображение Силы Адгезии/Отображение сопротивления растекания /СЕМ /МЗК /МСМ /ЭСМ/ Поперечно-силовая микроскопия/ АСМ (Силовая + Токовая), СТМ и RM литографии

В жидкости: Контактная АСМ / Микроскопия Боковых Сил/ Метод Модуляции силы/Изображение Силы Адгезии/ полуконтактная (scanner-driven) АСМ/ АСМ (Силовая) Литография.

Применение

Прибор для комплексного исследования различных материалов с высоким разрешением на воздухе и в контролируемых газовых средах (конфигурация сканирования образцом). Прибор может применяться в электронной промышленности для контроля нанолитографических (токовых, электрополевых, механических, химических и др.) операций, для контроля качества поверхности полупроводниковых и других пластин диаметром до 100 мм и толщиной до 20 мм. В химической промышленности, материаловедении и в биотехнологии прибор может применяться для контроля технологических процессов получения

различных покрытий, пленок, полимерных и структурированных материалов и т.д.

Определение антиоксидантной активности: Измерения проводились на анализаторе антиоксидантной активности «ЦветЯуза-01-АА» (Фотография 12) с помощью амперометрического метода детектирования, основанного на измерении электрического тока, возникающего при окислении исследуемого вещества (или смеси веществ) на поверхности рабочего электрода при определенном потенциале.

**Возможности
измерительного комплекса
«ЦветЯуза-01-АА»**

в медицине, фармацевтике, фармакологии, биохимии и народной медицине, работе с флавоноидами.



Фотография 12. ЦветЯуза-01-АА

Приказом Росздравнадзора от 10 декабря 2009 г. № 10169-Пр/09 комплекс разрешен к применению во всех медицинских учреждениях на территории Российской Федерации

В приборе используется амперометрический детектор.

Амперометрический метод основан на измерении электрического тока в ячейке, возникающего при окислении анализируемого вещества-антиоксиданта на поверхности рабочего электрода из стеклоуглерода при определенном потенциале.

Потенциал выбирается таким, что окисляются только антиоксиданты, другие соединения не определяются. Прибор позволяет определять как эндо-генные антиоксиданты (убихинол, липоевая кислота, мочевиная кислота, глутатион и др.),

так и экзогенные (витамины С, Е, флавоноиды, оксиароматические кислоты, каротиноиды и др.).

Основные возможности прибора в медицине, фармацевтике, фармакологии и биохимии:

- определение антиоксидантного статуса человека;
- контроль антиоксидантной терапии;
- изучение биопроницаемости антиоксидантов, флавоноидов;
- определение антиоксидантной активности лекарств и лекарственных средств;
- определение антиоксидантной активности экстрактов лекарственных трав применяемых в традиционной и народной медицине;
- определение антиоксидантной активности витаминов и поли-витаминов;
- определение антиоксидантов в БАДах;
- определение антиоксидантов в продуктах функционального питания для антиоксидантной терапии.

КОНСТРУКЦИЯ

Прибор «ЦветЯуза-01-АА» состоит из одного блока. В состав этого блока входят амперометрический детектор, термостат детектора и электронные платы управления прибором и связи с ПК, насос и кран-дозатор.

В качестве материалов рабочих измерительных электродов используются стеклоуглерод, золото, серебро, платина и др., как в чистом виде, так и с нанесёнными слоями наночастиц, нанотрубок.

Уникальные особенности данного прибора:

- селективно измеряются только антиоксиданты, другие соединения не мешают их определению;
- предел обнаружения - нано-, пикограммы (10^{-9} – 10^{-12} г);
- высокая точность и воспроизводимость (дозирование проб краном, СКО менее 3%);
- экспрессность анализа, продолжительность отдельного определения несколько минут;

- анализ проводится в реальном времени;
- простота в обслуживании;
- не требуется никаких реактивов (кроме стандартов);
- прибор портативен, можно проводить анализ в клиниках или на производстве БАД;
- низкая стоимость анализа;
- возможность дифференцировать антиоксиданты и флавоноиды по классам.

Сертификат об утверждении типа средств измерений № 21449 от 31.08.2005 г.

Зарегистрирован в Госреестре под № 20706-05.

Методики выполнения измерения аттестованы:

- для водорастворимых проб, свидетельство № 31-07 от 4 мая 2007 г.
- для жирорастворимых проб, свидетельство № 120-08 от 25 ноября 2008 г.

Изделие медицинского назначения № ФСР 2009/06380

Определение содержания основных нутриентов осуществлялась на системе высокоэффективной жидкостной хроматографии Цвет-Яуза-04 (Фотография



13).

Фотография 13. ВЭЖХ Цвет-Яуза-04 (НПО «Химавтоматика», Москва, Россия)

Цвет-Яуза-04 способен определять многие биологически активные соединения на уровне $1 \cdot 10^{-12}$ - $1 \cdot 10^{-8}$ г, в частности, маркеры заболеваний. Аналитические возможности хроматографов позволяют решить следующие задачи:

- определение в биологических жидкостях маркеров многих опасных заболеваний;
- определение лекарств в биологических жидкостях;
- исследование процессов фармакокинетики лекарств и лекарственных средств в организме человека;
- определение чистоты и подлинности лекарств;
- исследование процессов метаболизма лекарств и др. соединений в организме человека;
- определение оксидантов и антиоксидантов в биологических жидкостях;
- изучение биопроницаемости антиоксидантов и других биологических соединений;
- получение разнообразной информации для лечебно-диагностических целей.

Можно выделить самые важные применения приборов «ЦветЯуза».

Во-первых, определение маркеров опасных заболеваний:

- онкологических – измененных нуклеозидов, катехоламинов, гомованилиновой и ванилинминдальной кислот, серотонина, полиаминов, сахаров, эстрадиола, индольных производных и др.;
- сердечно-сосудистых – гомоцистеина, жирных кислот и др.

Во-вторых, приборы позволяют определять маркеры оксидативного стресса – предшественника многих заболеваний. Среди этих маркеров следует выделить наиболее информативные: 8-гидроксидеоксигуанозин, производные тирозина, 8-изопростан, малоновый диальдегид и др. Для определения маркеров, в основном используются неинвазивные методы отбора проб (моча, слюна, выдыхаемый воздух, конденсат выдыхаемого воздуха и др.).

Хроматографы «ЦветЯуза» позволяют определять в биологических жидкостях

практически все наркотики и наркотические вещества (кокаин, героин, каннабиноиды, кодеин, морфин и их производные).



Фотография 14 Амперометрический ВЭЖХ детектор (НПО «Химавтоматика», Москва, Россия)

Входящие в состав прибора амперометрический и 7-диапазонный УФ детектор значительно расширяют возможности исследователя по идентификации веществ.

Основные достоинства прибора:

- высокая чувствительность, позволяющая определять многие соединения без концентрирования;
- избирательность ко многим классам соединений за счёт смены рабочего электрода и величины прилагаемого потенциала в амперометрическом детекторе;
- высокая надёжность за счёт применения в приборе лучших отечественных и зарубежных устройств, комплектующих и материалов;
- полимерный жидкостный тракт;

- возможность установки практически любых типов колонок;
- возможность работы в одно- и двухколоночном вариантах;
- лёгкость обслуживания;
- экспрессность;
- компьютерный комплекс сбора, обработки и хранения хроматографических данных;
- выдача объективных результатов анализа в виде полного протокола;
- в 3-5 раз дешевле импортных аналогов.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ:

Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала:

амперометрического детектора, нА, не более - 0,25 (Фотография 14)

УФ-детектора, е.о.п - $2,5 \cdot 10^{-5}$

флуоресцентного детектора, о.е.ф. - $1,5 \cdot 10^{-5}$

Предел детектирования, г - $1 \cdot 10^{-8}$ - $1 \cdot 10^{-12}$

Предел допускаемого значения относительного средне квадратичного отклонения (СКО) выходных сигналов хроматографа, %:

по временам удерживания - 2

по высотам пиков - 3,5

по площадям пиков - 5

Потребляемая хроматографом мощность при выходе на режим, не более - 50

Вт

В установившемся режиме, не более - 10 Вт

Питание - 220 В, 50 Гц

Габаритные размеры хроматографа, без насоса - 250x310x415 мм

Вес без насоса, не более - 12 кг

Сертификат об утверждении типа средств измерений № 21449 от 31.08.2005 г.

Зарегистрирован в Госреестре под № 20706-05.

Лицензия на изготовление №12.1541-01

Изделие медицинского назначения Модель 01 № ФСР 2009/04387, Модель 04

№ ФСР 2009/04386



Фотография 15. Analysette 22 NanoTec

(Германия)

Лазерный анализатор размеров частиц «Analysette 22 NanoTec» (Фотография 15) является прибором универсального применения для определения распределения частиц по размерам в суспензиях, эмульсиях и порошках с помощью лазерной дифракции.

По сравнению с «классическими» методами измерения — рассевом, седиментацией либо анализом по изображению, — лазерная дифракция обладает рядом важных преимуществ, таких как краткое время анализа, хорошая воспроизводимость и точность, простая калибровка, большой диапазон измерений и высокая универсальность.

Диапазон измерения:

- диспергирование в жидкости от 0,01 до 2000 мкм;

- сухое диспергирование от 0,1 до 2000 мкм.

Количество пробы (прим.):

- диспергирование в жидкости 0,1–2 см³ в 500 мл жидкости;
- сухое диспергирование 5–50 см³.

В анализаторах, определяющих распределение частиц по размерам посредством лазерной дифракции, используется физический принцип рассеяния электромагнитных волн. Конструкция состоит из лазера, через измерительную ячейку направленного на детектор. При помощи диспергирующего устройства частицы подаются в измерительную ячейку и проходят сквозь лазерный луч. Свет, рассеянный пропорционально размеру частиц, посредством линзы фокусируется на детектор. По распределению рассеянного света при помощи комплексной математики рассчитывают распределение частиц по их размерам. В результате получают объемные доли, соответствующие эквивалентным диаметрам при лазерной дифракции.

Благодаря встроенной ультразвуковой ванне (объем около 500 мл, энергия и частота ультразвука 80 Вт/36 кГц), даже труднодиспергируемые пробы могут анализироваться без применения дополнительного оборудования. Цифровой ультразвуковой генератор всегда поддерживает установленную мощность на оптимальном и постоянном уровне.

Нижний предел чувствительности при малых количествах мелких и крупных частиц в распределениях их по размерам (в пределах диапазона измерений) — 3%. Воспроизводимость согласно ISO 13320-1 $d_{50} \leq 1\%$.

Производство геля и его переработка производится на установке Биотех разработанной автором (Рисунок 3). Вода поступает через участок водоподготовки, индивидуально спроектированный «Медиана-фильтр», Москва, Россия. Перед входом в основной реактор установлен (Фотография

19) УФ стерилизатор воды производства НПО «ЛИТ» ,Москва, Россия.

Для аналитических целей «Медиана-фильтр», Москва, Россия был создан блок подготовки воды: дистилляция + доочистка на ионообменных смолах (катионная и анионная) (Фотография 23)

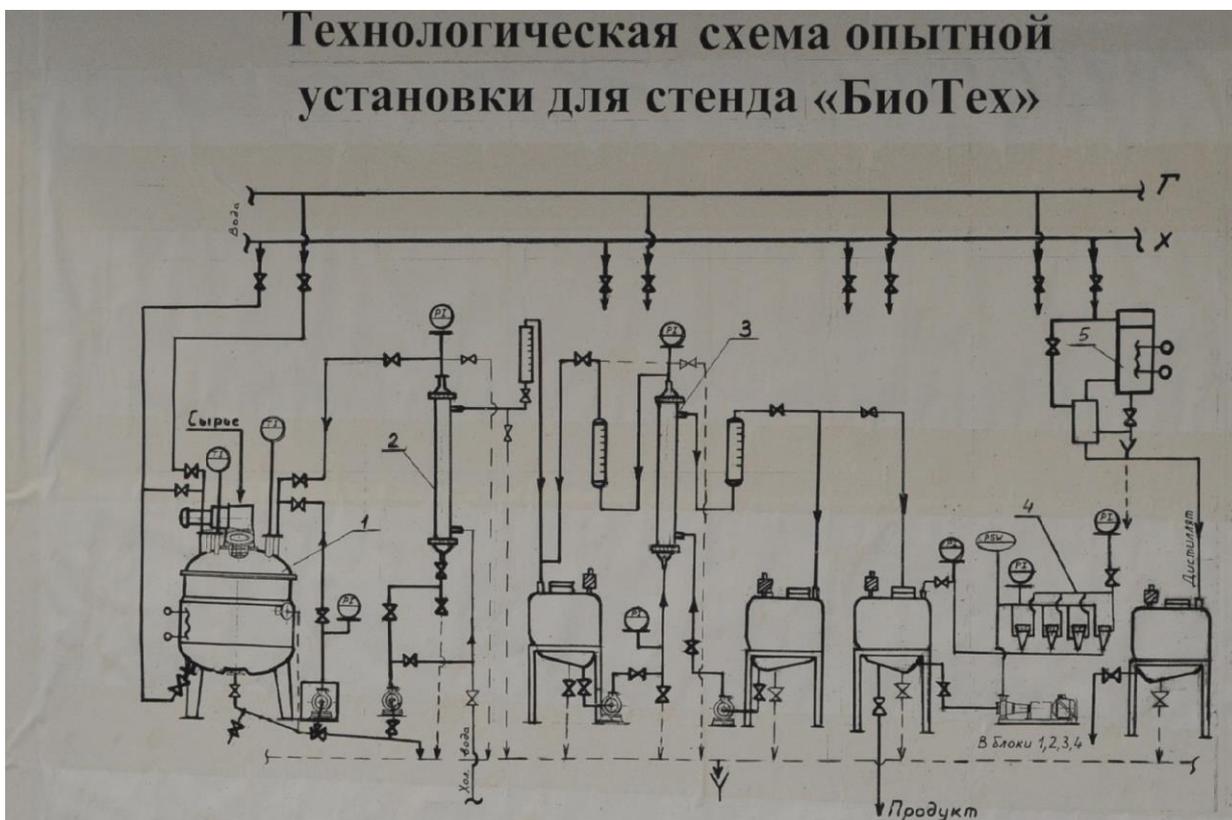


Рисунок 3. Технологическая схема опытной установки «БиоТех»

- 1-Блок подготовки сырья
- 2-Блок ультрафильтрации 150кДа
- 3-Блок ультрафильтрации 50кДа
- 4-Блок мембранного концентрирования 70 Да
- 5-Блок подготовки воды: дистилляция + доочистка на ионообменных смолах (катионная и анионная)

Готовый продукт – гель из бурых морских водорослей расфасовывается в

потребительскую тару на участке расфасовки (Фотография 25). Для предотвращения попадания специфических запахов водорослей в общую вентиляцию был установлен индивидуально разработанный и (Фотография 26) фотокаталитический очиститель выбрасываемого воздуха производства «Аэролайф», Москва, Россия.



Фото 16



Фото.17 Участок подготовки сыря



Фотография 18 Участок водоподготовки



Фотография 19. УФ стерилизатор воды



Фотография 20. Основной реактор с мешалкой и гомогенизатором



Фотография 21. Блок ультраfiltrации 150 кДа



Фотография 22. Блок ультраfiltrации 50 кДа



Фотография 23. Блок мембранного концентрирования 70 Да



Фотография 24. Блок подготовки воды: дистилляция + доочистка на ионообменных смолах (катионная и анионная)



Фотография 25. Участок розлива



Фотография 26. Фотокаталитический очиститель выбрасываемого воздуха

Глава 3. Результаты работы и их обсуждение

Изучение Химического состава различных образцов товарных бурых морских водорослей.

Согласно проведенным исследованиям состава образца продукта «Водоросли бурые гомогенизированные (ламинария) для диетического (лечебного и профилактического) питания» ТУ 9284-008-58673502-04, изготовленного из морских водорослей рода *Laminaria*, с использованием совокупности аналитических методов анализа (экстракция водного раствора с последующим осаждением HCl, высокоэффективная хроматография и УФ-спектроскопия) был установлен качественный и количественный состав содержащихся в нем хлорофиллов, продуктов их биологической деградации, а также определено количество содержащейся в нем альгиновой кислоты. Данные по содержанию некоторых веществ в различных группах ламинарий представлены в таблице 4.

Массовое содержание хлорофиллов и продуктов их деградации из расчета на 1 кг сырого веса образца «Водоросли бурые гомогенизированные» представлены в таблице 6.

Таблица 4

Содержание некоторых веществ в различных группах ламинарий

Наименование образца	Содержание сухих в-в, %	Содержание (% на сухое вещество)		
		йода	альгиновой кислоты	азотистых в-в
Ламинария сушеная (Китай)	87,91	0,037	45,39	1,90

Ламинария сушеная (Сахалин)	83,17	0,175	26,90	1,40
Ламинария сушеная Ангро (Аргентина)	86,81	0,043	34,96	1,70
Ламинария высший сорт (Архангельск)	83,67	0,179	29,74	1,44
Ламинария 1 сорт (Архангельск)	86,43	0,062	31,86	1,61
Ламинария в слоевицах сорт А (Сахалин)	89,79	0,390	31,62	1,59
Ламинария в слоевицах сорт В (Сахалин)	90,33	0,141	27,77	0,81
Ламинария сушеная, набухающая в 6 раз Китай	89,19	0,090	30,29	1,84
Ламинария сушеная, набухающая в 13 раз Китай	87,31	0,001	49,53	2,30
Ламинария сушеная б/п (Германия)	95,54	0,001	44,77	1,86
Ламинария варёно- мороженая Китай	89,83	0,093	33,23	1,98
Ламинария "новая", набухающая в 6 раз Китай	89,36	-	27,43	1,83

Ламинария "новая", набухающая в 17 раз Китай	83,40	-	49,33	2,11
--	-------	---	-------	------

Технология получения альгинатных гелей и чистой альгиновой кислоты, созданная Т.С. Stanford в 1881 г. [8] принципиально не меняется до настоящего времени. Получение альгиновой кислоты и альгината натрия включает 2-3 разовое промывание водорослей, их измельчение до размера 3 см² и обработку соляной или серной кислотой в течение 3-4 ч при постоянном перемешивании. Далее в промытые водоросли добавляется 10 частей воды и 5-10% соды (карбоната натрия), смесь нагревается до 40°С и выдерживается при постоянном перемешивании 2 ч. В результате получается клееобразная густая паста - галерта, которая разводится 10 объемами воды для снижения вязкости, барботируется газообразным кислородом, то есть осуществляется процесс газовой флотации для очистки массы от взвешенных частиц. Полученный раствор альгината натрия отбеливается гипохлоритом натрия; затем очищенный и отбеленный раствор альгината натрия обрабатывается серной или соляной кислотой при рН 3 в течение 2 ч. до образования геля альгиновой кислоты. Обезвоженная на центрифугах альгиновая кислота нейтрализуется едким натром или карбонатом натрия. По окончании нейтрализации образуется гель альгината натрия, который обезвоживается и сушится [11].

Технологический процесс получения альгинатов стал прототипом получения различных средств для диетического и лечебного питания на базе бурых морских водорослей. Одним из них является гель из гомогенизированных бурых водорослей с размером частиц не более 500 мкм, содержанием йода не менее 15 мг/кг и углеводных фракций: маннит - 133,4±12,1 мг/г, альгиновая кислота - 147,8±10,7 мг/г. Прием геля обеспечивает за счет антиоксидантного и иммуномодулирующего действия восстановление нарушенного метаболизма, выведение из организма токсических веществ при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой и эндокринной систем [12,13].

Разработан технологический процесс производства геля из бурых морских водорослей [14]. При разработке авторы исходили из соображений достижения дезагрегации клеток водорослей и деструкции их клеточных стенок при условии минимальной деградации биологически активных веществ. Контроль деструкции клеток осуществлялся с помощью Analysette 22 NanoТес.

Авторы ставили перед собой задачу достичь моды и медианы размера частиц менее 100 мкм, что говорит о разрушении клеточной оболочки. Для этого с интервалом в 5 минут отбирались образцы из реактора после начала гомогенизации. Процесс проходил в слабощелочной среде (рН 7.8) при температуре 75 градусов С. При постоянном перемешивании якорной мешалкой 30 об/мин. И гомогенизации на Образец №1 был отобран непосредственно перед гомогенизацией и не вошел в итоговую таблицу, поскольку его было невозможно проанализировать на данном типе оборудования из-за более крупного размера частиц, выходящего за пределы возможностей оборудования (Таблица 5).

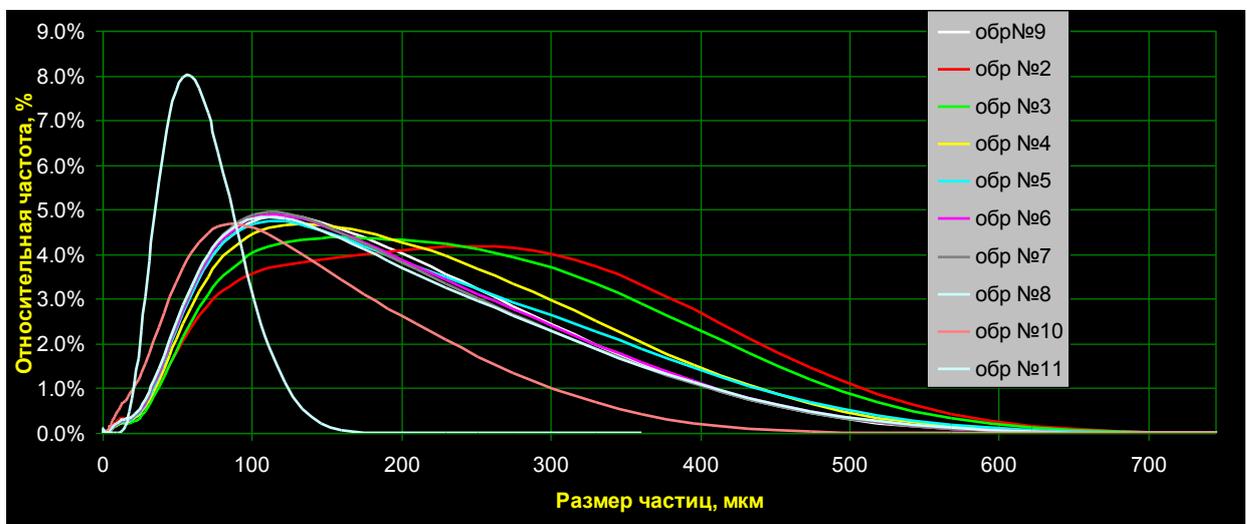


Рисунок 4. Результаты измерений распределения гомогенизированных водорослей по размеру

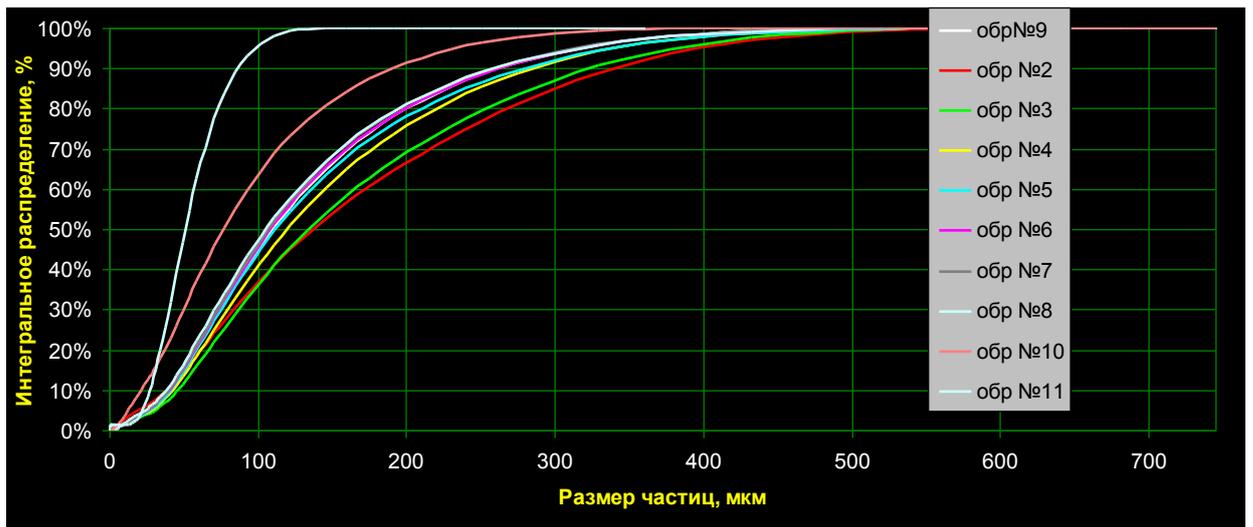


Рисунок 5. Результаты измерений распределения гомогенизированных водорослей по размеру

Таблица 5. Размер частиц геля при гомогенизации.

Пробы отобраны с интервалом в 5 минут

<i>Образец</i>	<i>Мода, мкм</i>	<i>Медиана, мкм</i>	<i>90% <, мкм</i>	<i>% < 10 мкм</i>	<i>% < 100 мкм</i>
<i>обр №2.dat</i>	<i>251.000</i>	<i>146.200</i>	<i>361.000</i>	<i>2.6%</i>	<i>37.4%</i>
<i>обр №3.dat</i>	<i>160.000</i>	<i>146.200</i>	<i>330 000</i>	<i>1.5%</i>	<i>36.8%</i>
<i>обр №4.dat</i>	<i>133.500</i>	<i>121.900</i>	<i>302.000</i>	<i>1.6%</i>	<i>41.6%</i>
<i>обр №5.dat</i>	<i>111.400</i>	<i>121.900</i>	<i>302.000</i>	<i>1.6%</i>	<i>44.9%</i>
<i>обр №6.dat</i>	<i>111.400</i>	<i>111.400</i>	<i>275.000</i>	<i>1.6%</i>	<i>46.3%</i>
<i>обр №7.dat</i>	<i>111.400</i>	<i>111.400</i>	<i>275.000</i>	<i>1.5%</i>	<i>47.0%</i>

<i>обр №8.dat</i>	111.400	111.400	27 .000	1.8%	48.0%
<i>обр№9.d at</i>	121.900	111.400	275.000	1.4%	45.7%
<i>обр №10.dat</i>	84.900	77.500	191.500	3.7%	64.3%
<i>обр №11.dat</i>	59.100	54.000	93.000	1.4%	96.1%

Данные таблицы 5 свидетельствуют о том, что 50 минут это необходимое и достаточное время для деструкции клеточной стенки водорослей, что приводит к повышению биодоступности биологически-активных веществ.

Таблица 6. Массовое содержание хлорофиллов и продуктов их деградации из расчета на 1 кг сырого веса образца «Водоросли бурые гомогенизированные» (\pm стандартное отклонение, $n = 5$).

Определяемый хлорофилл	Масса (мг/кг)
Название	
Хлорофилл <i>a</i>	430.32 \pm 12.82
Хлорофилл <i>C1</i>	8.64 \pm 0.65
Хлорофилл <i>C2</i>	12.99 \pm 1.34
13 (Я,8)-гидрокси-хлорофилл <i>a</i>	2.58 \pm 0.11
Феофетин <i>a</i>	3.87 \pm 0.34
Феофорбид <i>a</i>	1.43 \pm 0.11
Хлорофиллид <i>a</i>	2.11 \pm 0.15
Фитилхлорофиллид <i>a</i>	1.13 \pm 0.07
Пирофеофетин <i>a</i>	1.11 \pm 0.06
Пирофеофорбид <i>a</i>	1.34 \pm 0.09

Согласно проведенным исследованиям состава образца препарата "Водоросли бурые гомогенизированные (ламинария и фукус) для диетического (лечебного и профилактического) питания", изготовленного из морских водорослей рода *Laminaria*, с использованием совокупности аналитических методов анализа

(экстракция водного раствора с последующим осаждением HCl , высокоэффективная жидкостная хроматография и УФ-спектроскопия) был установлен качественный и количественный состав содержащихся в нем хлорофиллов, продуктов их биологической деградации, а также определено количество содержащейся в нем альгиновой кислоты.

Исходный образец препарата «Водоросли бурые гомогенизированные» является желеобразной неоднородной массой бурого цвета со специфическим запахом. Содержание воды в образце составляет 83 %. Содержание альгиновой кислоты в образце составляет 20 % ($201,4 \pm 3,9$ г/кг сырого веса образца).

Данные УФ-спектров поглощения химических соединений приведены на рисунке 1. Данные высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для $13^2(\text{Я},8)$ -гидрокси-хлорофилл *a* (г) приведены на рисунке 2. Характеристические полосы поглощения соединений в растворе хлороформа.

Исходный образец препарата "Водоросли бурые гомогенизированные" представляет собой высушенную плотную массу бурого цвета. Содержание воды в образце составляет около 3%. Экстракт образца светло-желтый.

Анализ пигментов проведен методом экстракции в водном растворе с последующим УФ-спектроскопическим анализом.

Фукозу определяли экстрагированием дистиллированной водой на водяной бане, с последующей обработкой ацетатом свинца и гидроокисью бария. Образующийся осадок разбавляли серной кислотой с последующим упариванием. Галактозу и ксилозу определяли по общепринятой методике.

Альгиновую кислоту определяли последовательной обработкой "Водоросли бурые гомогенизированные" дистиллированной водой (размачивание, набухание), с последующей обработкой формалином и едким натром. Образующийся экстракт обрабатывали соляной кислотой. Полученную взвесь альгиновой кислоты определяли количественно.

Таблица 7.

Содержание пигментов и продуктов деградации в образце препарата "Водоросли бурые гомогенизированные" и экстракте (\pm стандартное отклонение. $n=5$)

N	Пигменты	Сухой препарат "Водоросли бурые"	Экстракт мкг/л
1	Хлорофилл а	1785,0 \pm 23,4	28,1 \pm 2,1
2	Хлорофилл С1	41,3 \pm 11,0	2,0 \pm 0,1
3	Хлорофилл С2	83,2 \pm 12,3	4,0 \pm 0,8
4	Феофитин а	24,8 \pm 3,7	3,0 \pm 0,3
5	Феофорбид а	60,3 \pm 8,4	9,0 \pm 1,9
6	Хлорофиллид а	42,3 \pm 12,1	1,0 \pm 0,2
7	Фитилхлорофиллид а	11,4 \pm 2,5	Не
8	Пирофеофетин	14,7 \pm 1,8	Не
9	Пирофеофорбид	21,1 \pm 11,7	2,3 \pm 0,5

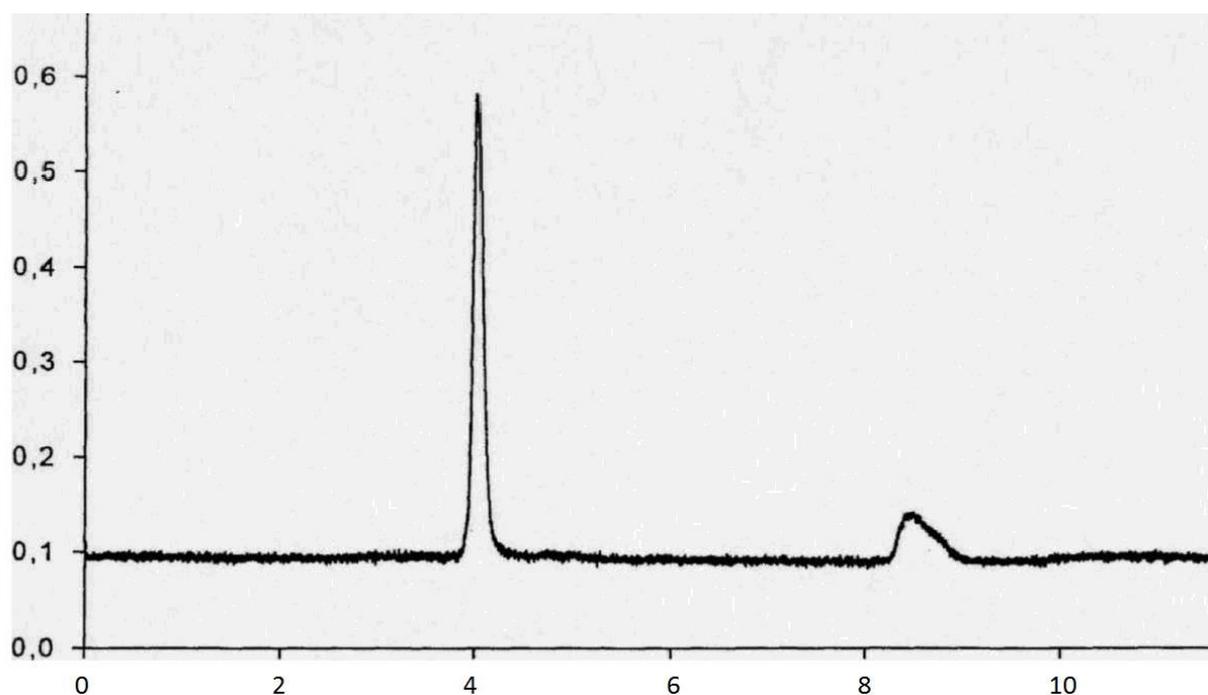


Рисунок 6. Данные высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для соединения 13 (11,8)-гидрокси-хлорофилл а (г).

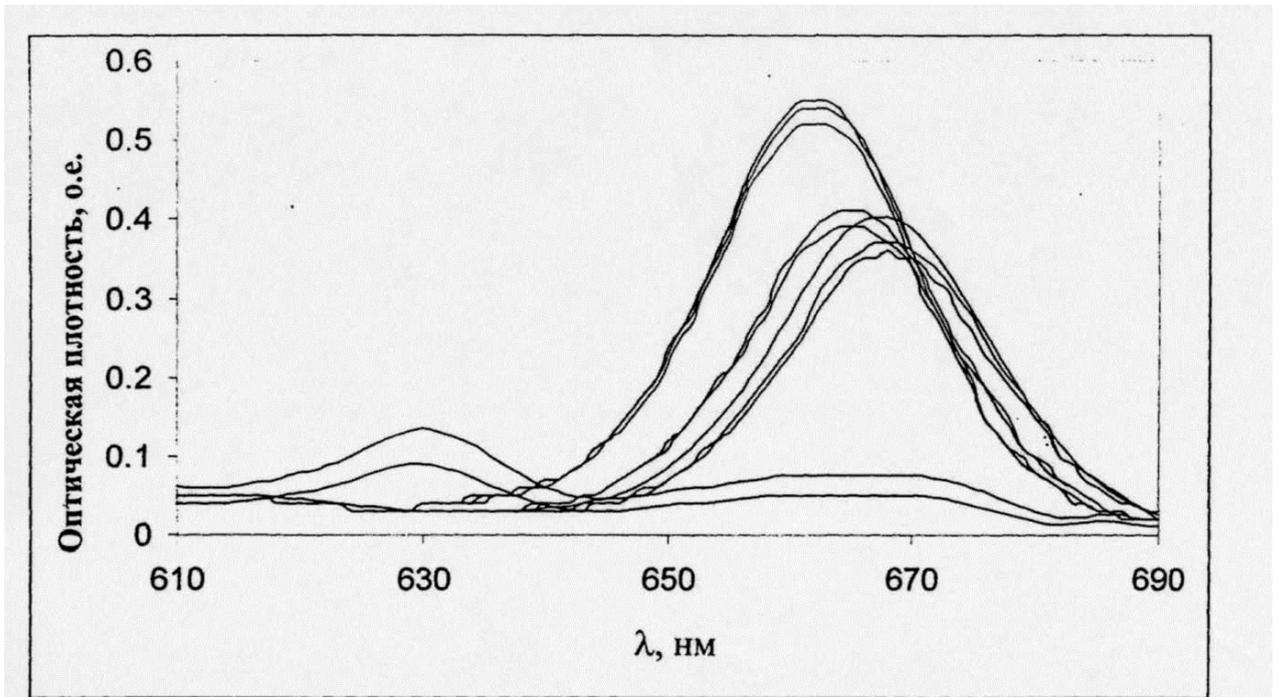


Рисунок 7. Спектры поглощения соединений а-к в хлороформе.

Таблица 8.

**Характеристические полосы поглощения соединений а - и в растворе
хлороформа**

Шифр	Определяемый	Электронный
А	Хлорофилл а	662
Б	Хлорофилл С1	628
В	Хлорофилл С2	629
Г	Феофетин а	668
Д	Феофорбид а	668
Е	Хлорофиллид а	662
Ж	Фетилхлорофиллид а	662
З	Пирофеофетин а	665
И	Пирофеофорбид а	665

Таблица 9.

Содержание углеводных фракций в образце препарата

Название	Масса мг/г
Маннат	133,4±12,1
Альгиновая кислота	147,8± 10,7
Фукоза	107,5 ±10,4
Галактоза	1,1 ±0,2

С помощью прибора "Яуза-ЦветАА" было произведено сравнение антиоксидантной активности 3 различных методик обработки водорослей с одинаковым гидромодулем (Таблица 9). Полученные данные однозначно показывают преимущество предполагаемого метода гидролиза водорослей, как о плане сохранности фукоидана, так и общего количества водорастворимых антиоксидантов.

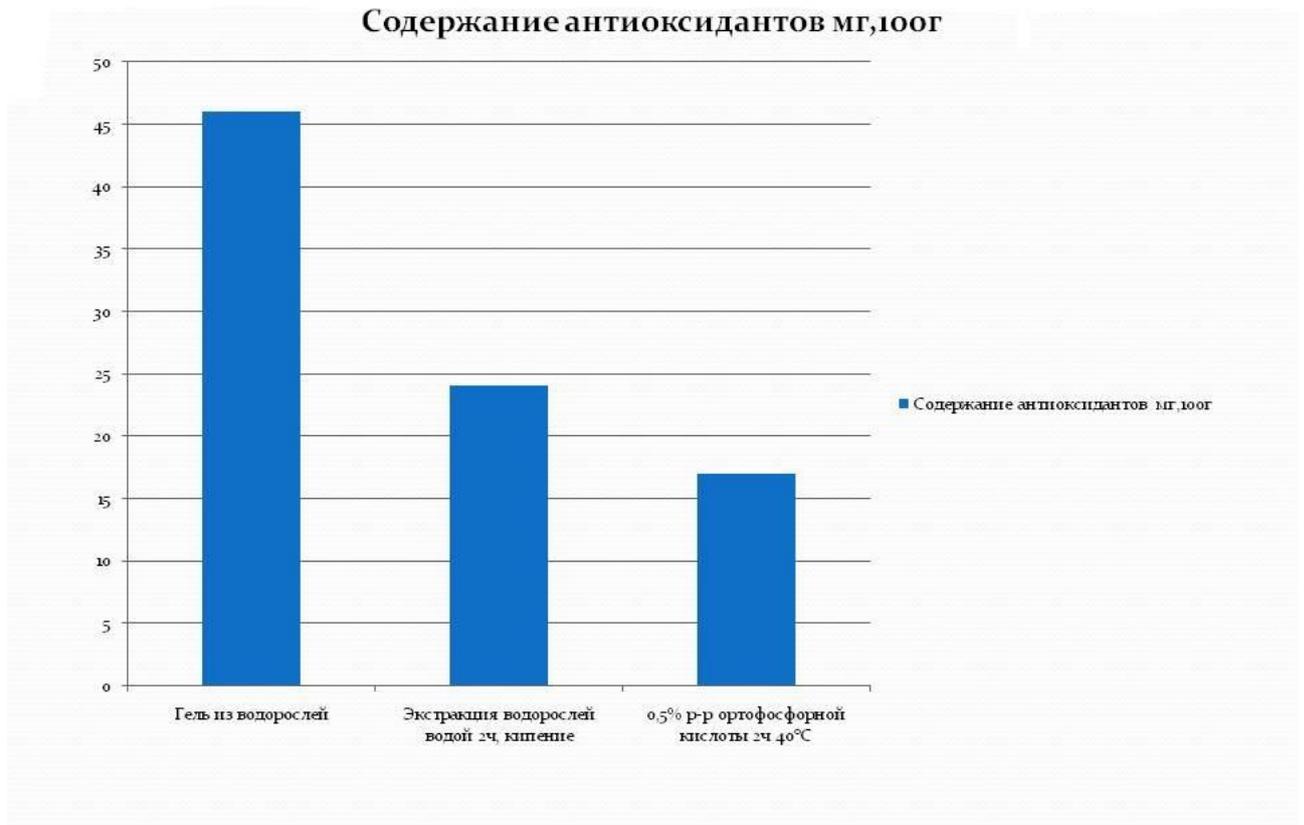
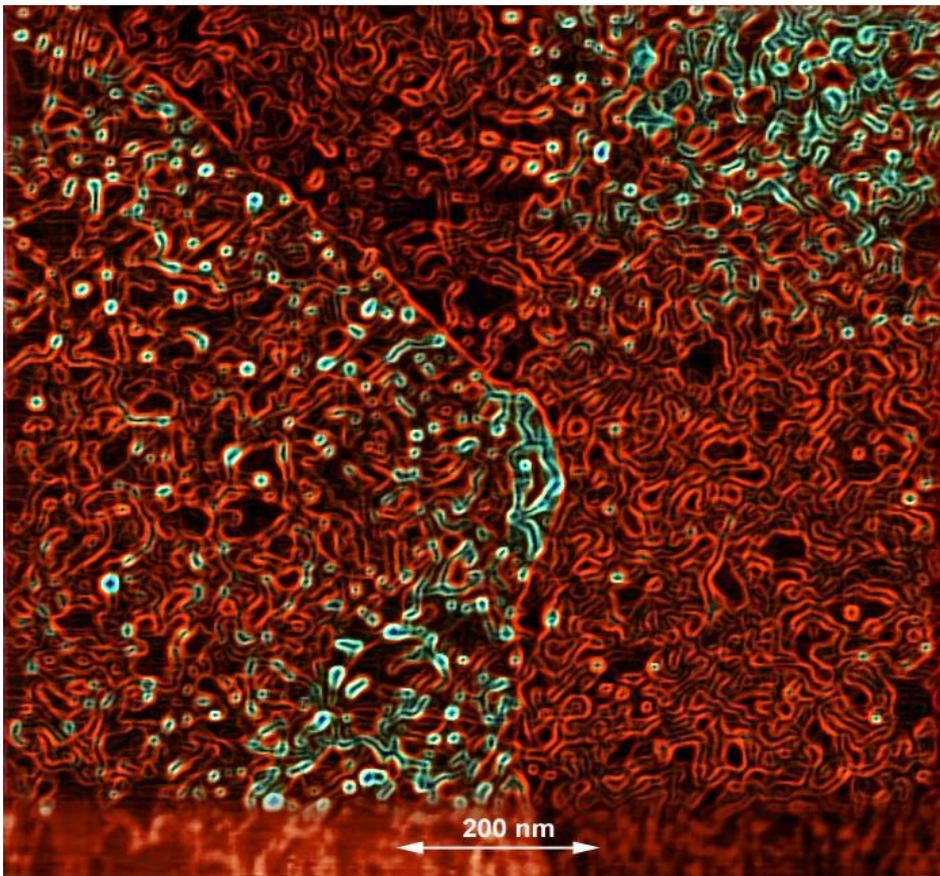


Рисунок 4. Содержание антиоксидантов в разных образцах, мг/100г.

Ингибирующее действие полианионов на репликацию вируса герпеса было показано более 40 лет назад. Однако тогда это сообщение не вызвало большого интереса, так как действие подобных соединений считалось неспецифическим. Вскоре после открытия вируса иммунодефицита человека было установлено, что гепарин и другие сульфатированные полисахариды селективно ингибируют репликацию HIV-1 в культурах клеток. Позже было показано, что аналогичным образом эти соединения действуют на вирусы, имеющие липопротеиновую оболочку (так называемые «enveloped viruses»). Показано, что сульфатированные полисахариды способны подавлять репликацию HIV в культуре клеток в концентрации 0,01-0,1 мкг/мл, без токсического действия на клетки, которое проявляется при концентрации полисахаридов большей, чем 2, 5 мкг/мл. Показано, что противовирусное действие зависит от молекулярной массы и степени сульфатирования препаратов. Известно, что первая стадия взаимодействия вируса

с инфицируемой клеткой состоит во взаимодействии положительно заряженных групп гликопротеина вирусной оболочки с сульфатированным гепараном клеточной поверхности.

Подобный механизм предполагается также для вирусов герпеса типов 1 и 2 (HSV-1 и HSV-2). В большинстве известных работ, посвященных противовирусному действию фукоиданов, исследовано взаимодействие молекул фукоидана с клетками, инфицируемыми вирусом. Взаимодействие вирусных частиц с фукоиданами ранее не изучалось.



Фотография 27.
Взаимодействие
вирусных частиц с
фукоиданом

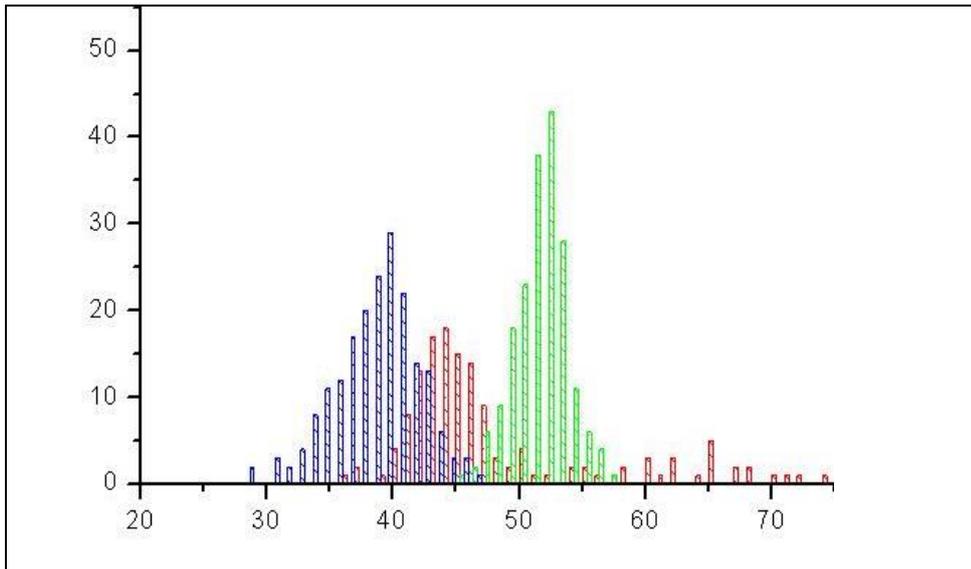
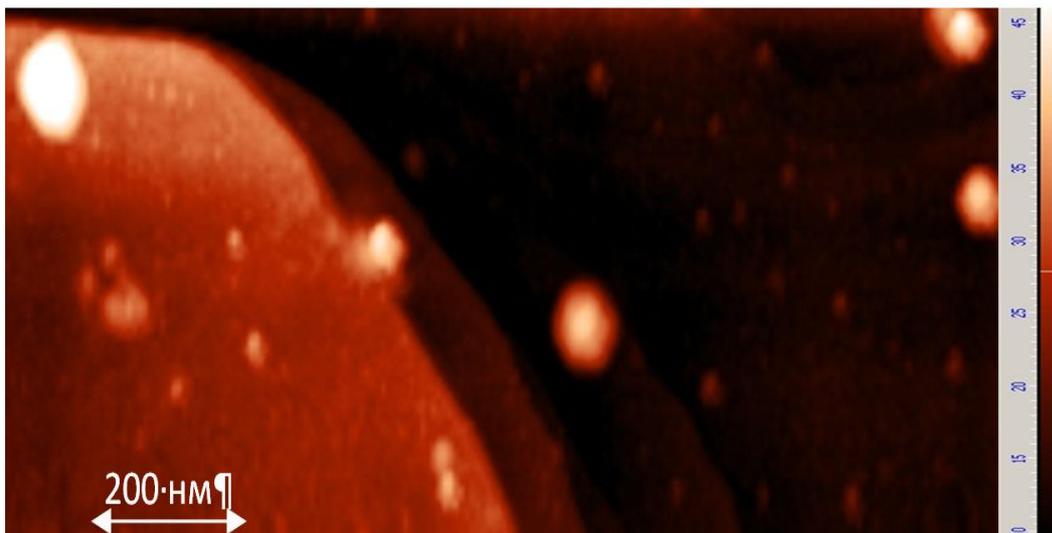


Рисунок 5 Результаты статистической обработки суммированы в виде гистограммы.

Целью данной работы было изучение взаимодействия фукоидана с поверхностью вирусных частиц, имеющих липопротеиновую оболочку. Для выявления такого взаимодействия очень хорошо подходит метод АСМ, так как именно он дает информацию о микрорельефе поверхности и позволяет измерить не только длину, но и высоту наблюдаемых объектов. Типичное изображение частицы вируса гриппа приведено на Фотографии 28.

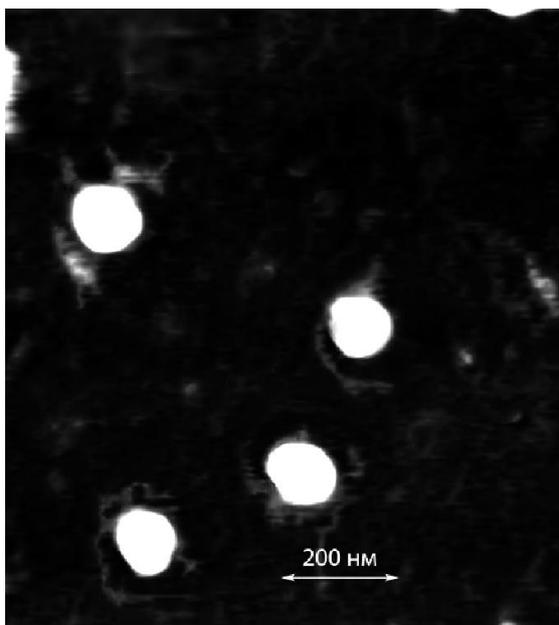


Фотография 28. АСМ-изображение частицы вируса гриппа

В данном эксперименте проводились АСМ-измерения высоты вирусных частиц до и после обработки их водными растворами фукоиданов (концентрация 1 и 100 нг/мл соответственно). Вирусные частицы в растворе фукоиданов наносились на

подложку и высушивались. В случае наличия такого взаимодействия и «налипания» молекул фукоидана на липипротеиновую оболочку вирусной частицы, ее высота должна была увеличиваться, что можно измерить с помощью АСМ. Для получения статистически достоверных результатов было получено несколько десятков АСМ-изображений как препаратов вирусных частиц, так и препаратов, обработанных раствором фукоидана. Были измерены высоты вирусных частиц (до 200 частиц в каждом случае). На Фотографии 29 представлены АСМ-изображения вирусных частиц, после взаимодействия с молекулами фукоидана.

Результаты были статистически обработаны и представлены в виде гистограммы (Рисунок 4). Можно видеть, что средний размер вирусных частиц после обработки их фукоиданами значительно изменяется. При обработке фукоиданами в небольшой концентрации (0,1 мкг/мл средняя высота частиц увеличивается с 40 до 45 нм). При увеличении концентрации раствора до 1 мкг/мл средняя высота частиц достигает 50 нм. (Рисунок 5). Эти данные могут свидетельствовать о наличии взаимодействия между положительно заряженными группами липопротеинов вирусной оболочки и отрицательно заряженными сульфатными группами фукоиданов. Мы не можем на основании этих данных судить о специфичности взаимодействия фукоиданов с поверхностью вирусных частиц. Ранее было показано, что фукоиданы препятствуют именно проникновению вируса в клетку и не оказывают действия на процессы синтеза вирусных белков. Предполагалось, что это происходит за счет возникающей ионной связи отрицательно заряженных групп сульфатированных фукоиданов с противоположно заряженными компонентами клеточной мембраны. Данные о специфичности этого взаимодействия практически нет. О том, что увеличение высоты вирусных частиц после обработки их раствором водным раствором фукоидана объясняется «налипанием» на вирусную частицу именно молекул фукоидана, можно судить только по подтвержденной предварительными исследованиями с помощью АСМ чистотой полученного препарата фукоидана.



Фотография 29. СЗМ Изображение вирусов гриппа после обработки фукоиданом и отмывки. Видна адгезия молекул фукоидана на поверхности вируса

Таким образом, в наших экспериментах показано, что существует взаимодействие фукоиданов непосредственно с вирусными частицами и, возможно именно оно ответственно за противовирусные свойства этих соединений. Противовирусный эффект этих соединений может быть обусловлен инкапсулированием вирусных частиц и их дезактивации вследствие этого.

По литературным данным известно (Ефимов А.А. ,2007; А.А. Pascal, L. Caron, V. Rousseau, K. Larouge, J. – S., 1998), что в ламинарии находятся хлорофиллы *a*, *c*₁, *c*₂ и каротиноиды фукоксантин, виолаксантин, β -каротин. Хлорофиллу принадлежат полосы поглощения 457, 588, 633 и 668 нм, кроме того, полоса 611нм, вероятно, относится к колебательному обертону полосы 668 нм; каротиноидам принадлежат полосы электронных переходов при 466, 510, 548 нм.

Известно, что под действием стрессовых факторов (радиация, физические, химические, биологические воздействия окружающей среды и др.) образуются свободные радикалы и их токсичные продукты, способные вызывать повреждения функционально-важных молекул. В химии высоких энергий в качестве модели окислительного стресса применяют воздействие ионизирующего излучения на системы. Применение метода радиационно-химического моделирования реакций позволит изучить радиолиз экстрактов бурых водорослей и прогнозировать их антиоксидантные свойства, данный метод не требует больших затрат времени, денег, в отличие от биологических испытаний (мыши, кролики и др.).

Исследование по влиянию дозы ионизирующего излучения на экстракты морепродуктов в ацетоне проведено в интервале доз от 0.5 кГр до 10 кГр в аэрированных условиях. Спектры оптического поглощения сняты через 5-10 минут после достижения растворами заданной дозы.

На рисунке 6 представлены исходные спектры оптического поглощения экстракта водорослей в ацетоне. При длине оптического пути $l=1$ мм зарегистрирована полоса в ультрафиолетовой области, которая отнесена к активным пигментам, по видимому, каротиноидам.

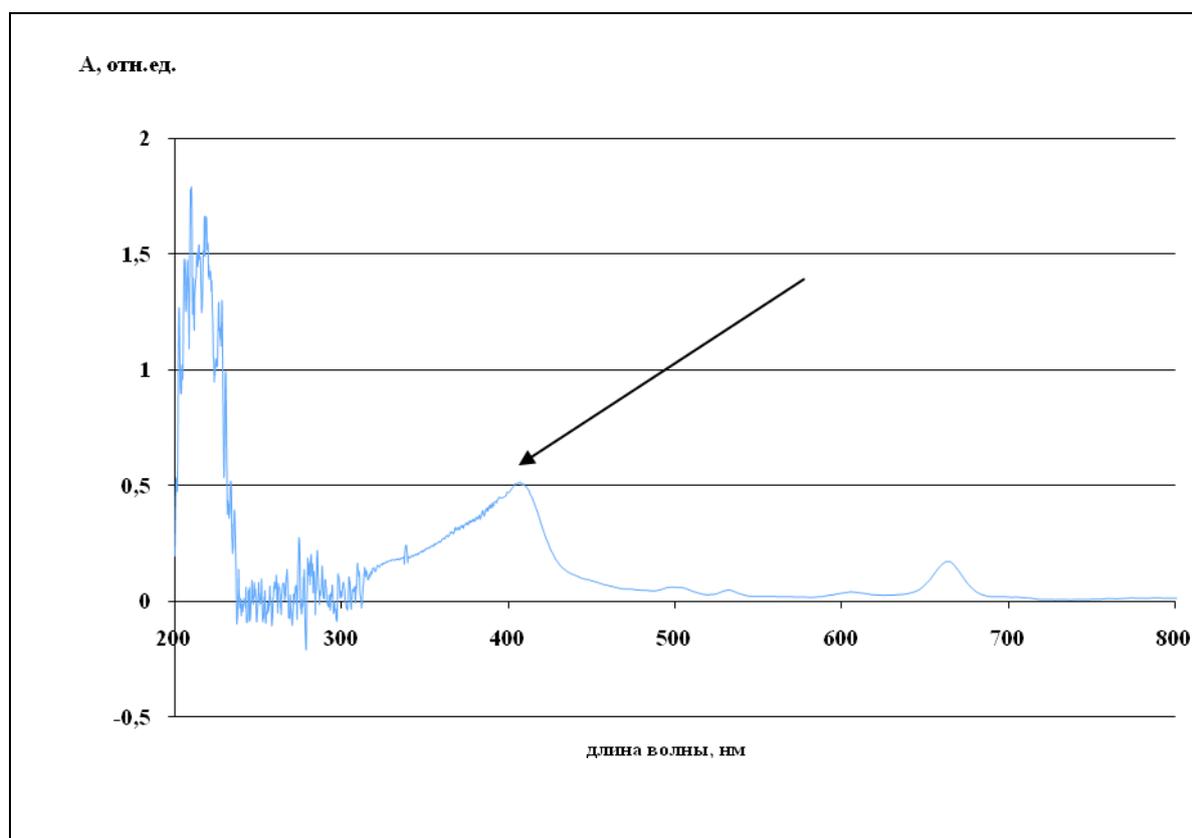


Рисунок 6. Исходный экстракт водорослей в ацетоне относительно ацетона. Длина оптического пути 1 мм.

Далее на рисунке 7 для более детальной картины в видимой части спектра были сняты спектры при длине оптического пути 10мм. На спектре оптического поглощения зарегистрированы максимумы полос поглощения в видимой области спектра. Выделены следующие явные максимумы: 410 нм, 504 нм, 537 нм, 611 нм, 668 нм.

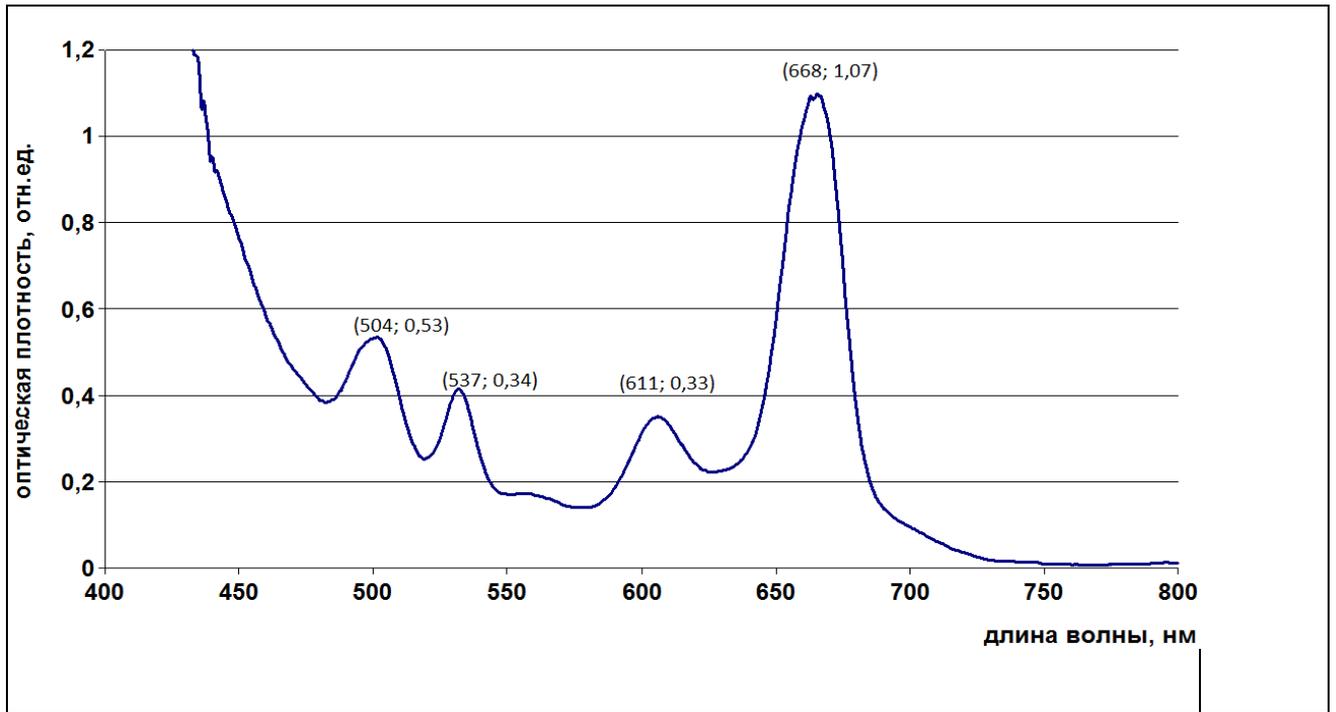


Рисунок 7. Исходный экстракт водорослей в ацетоне относительно ацетона. Длина оптического пути 10 мм.

На рисунке 8 представлены изменения спектров оптического поглощения аэрированных экстрактов водорослей в ацетоне в зависимости от дозы. Интенсивность полос поглощения аэрированных растворов в ацетоне оказалась различной. На рисунке 9 представлено изменение оптической плотности водорослей в ацетоне в аэрированных условиях от дозы при следующих длинах волн: 668 нм, 504 нм, 611 нм, 537 нм.

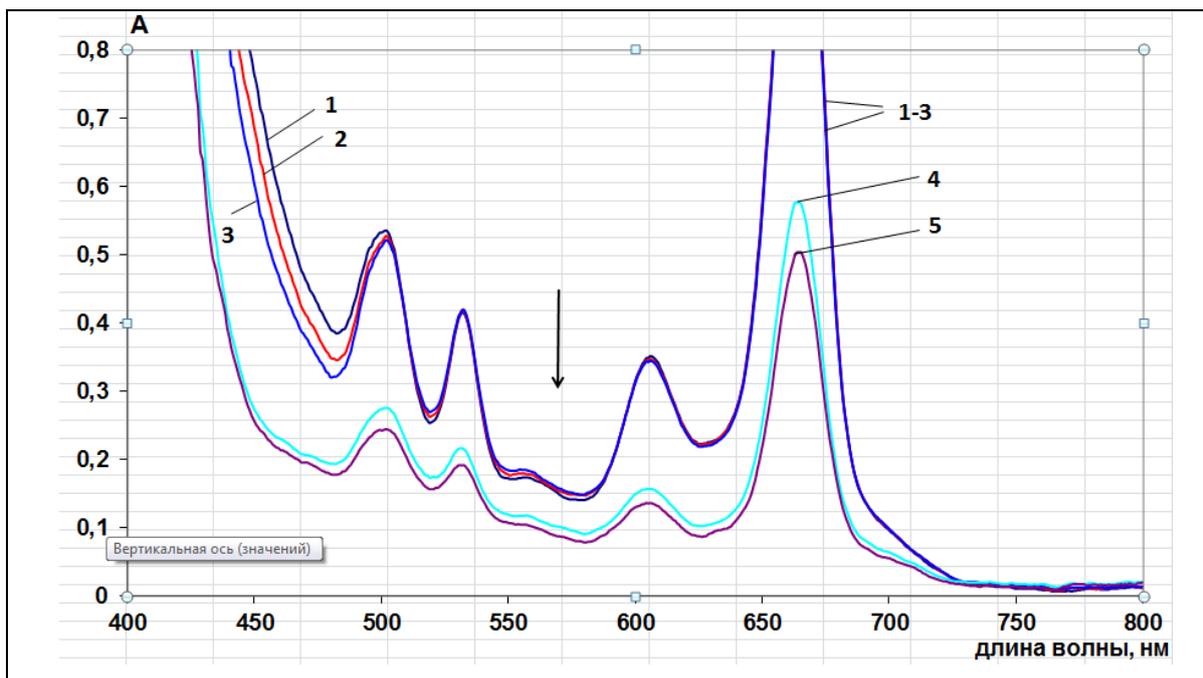


Рисунок 8. Изменения спектров оптического поглощения аэрированных экстрактов водорослей в ацетоне. В

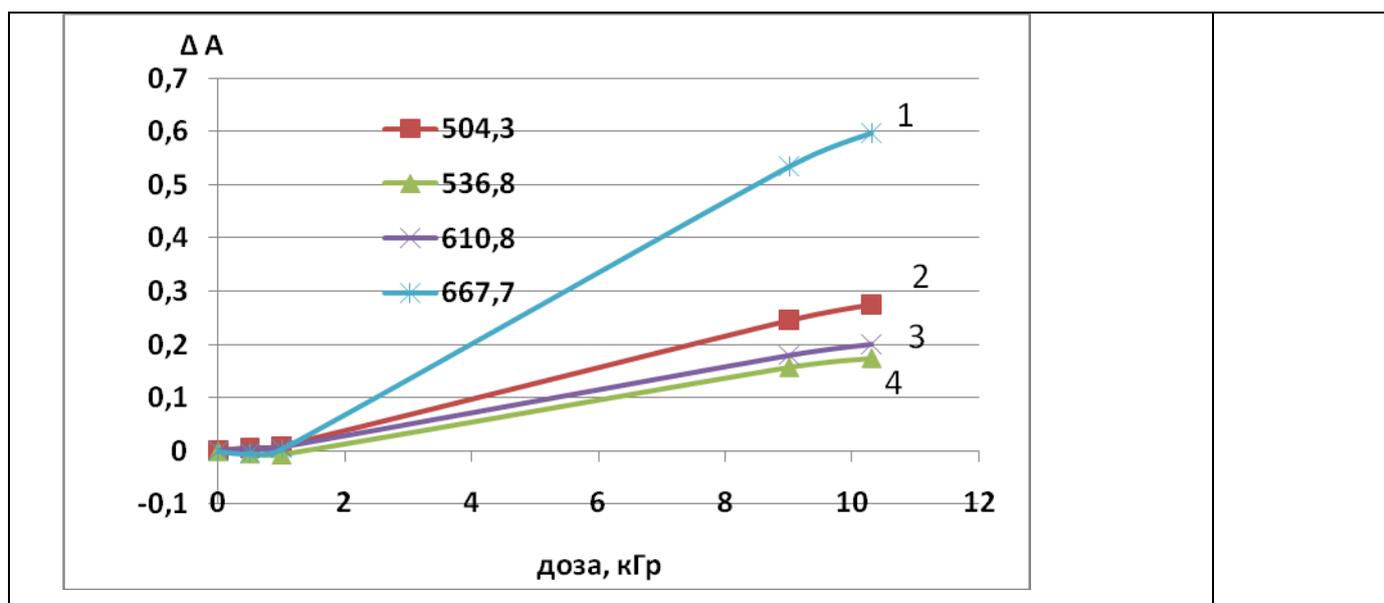


Рисунок 9. Изменение оптической плотности водорослей в ацетоне в аэрированных условиях от дозы при следующих длинах волн (нм): 1- 668, 2 – 504, 3 – 611, 4 – 537.

В ацетоне пигменты оказались радиационно-устойчивы к действию излучения до дозы 1 кГр, после чего наблюдаем резкое увеличение радиационной чувствительности, особенно при длине волны 667,7 нм, которая как раньше было сказано принадлежит к хлорофиллу, а именно хлорофиллу а. Исходя из структуры хлорофилла а, приведенного на рисунке 5, можно сделать предположение, что его разрушение происходит за счет восстановительных радикалов, которые образуются только после полного исчерпания растворенного кислорода, что и обуславливает наличие индукционного периода.

После восстановления (или присоединения по двойным связям) происходит изменение конформации молекулы, в результате чего она утрачивает возможность удерживать центральный ион магния и таким образом происходит разрушение хромофорного центра. Разрушение каротиноидов происходит восстановительными радикалами хлорофилла (полоса электронного поглощения 510нм). Для подтверждения этих выводов необходимо произвести облучение экстрактов при условиях насыщения инертным газом (аргоном) и при условиях

насыщения закисью азота. Кроме того, было бы целесообразным разделить хлорофилл и каротиноиды для изучения их радиационных превращений в индивидуальном состоянии, а так же изучить их взаимное влияние для возможного усиления антирадикальной активности экстрактов.

Исследование радиационной устойчивости гелей, полученных из бурых водорослей

В работе проведено изучение распределение частиц экстракта морепродуктов в виде геля на приборе *Analysette 22 NanoTec*. Было показано, что воздействие ионизирующего излучения [дозой](#) 30 кГр не привело к значительным изменениям в распределении по размерам частиц геля, что представлено на рисунке 11. Поскольку различия в спектрах до и после не наблюдается, таким образом, можно предположить, что основные структурные полисахариды не являются радиочувствительными при изученных диапазонах. Таким образом, дезагрегации частиц геля не выявлено.

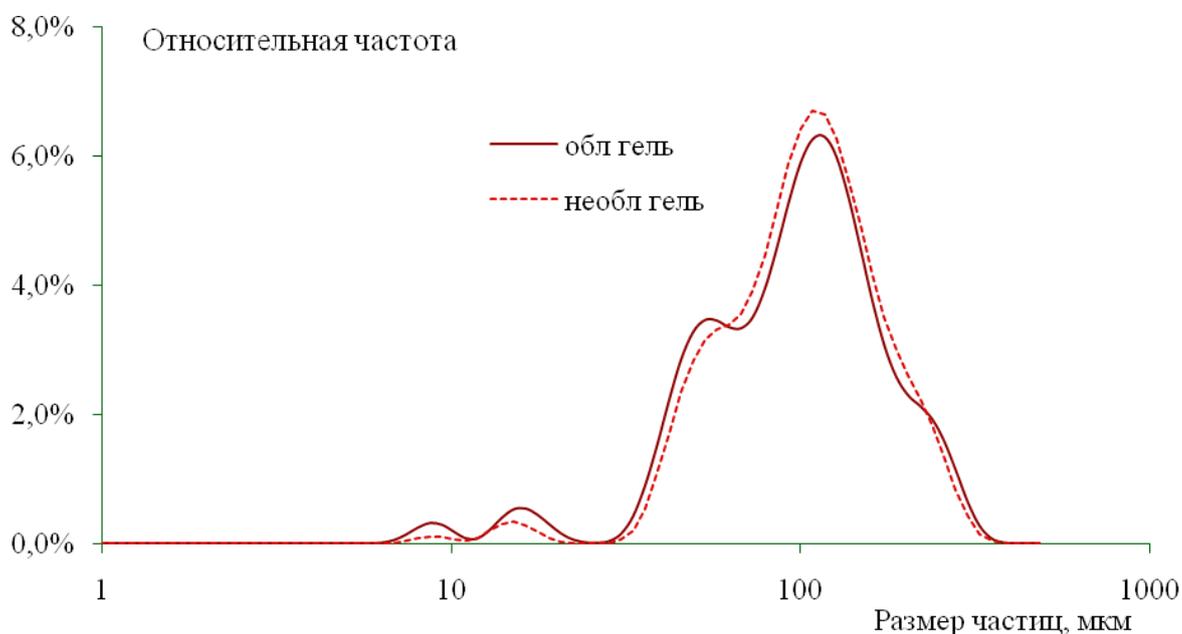


Рисунок 10 . Распределение частиц по размерам.

Для проведения спектрофотометрических исследований по радиационной устойчивости экстракт морепродуктов в виде геля центрифугировали 8000

оборотов 30 минут. Измерения проведено относительно дистиллированной воды, длина оптического пути 10 мм.

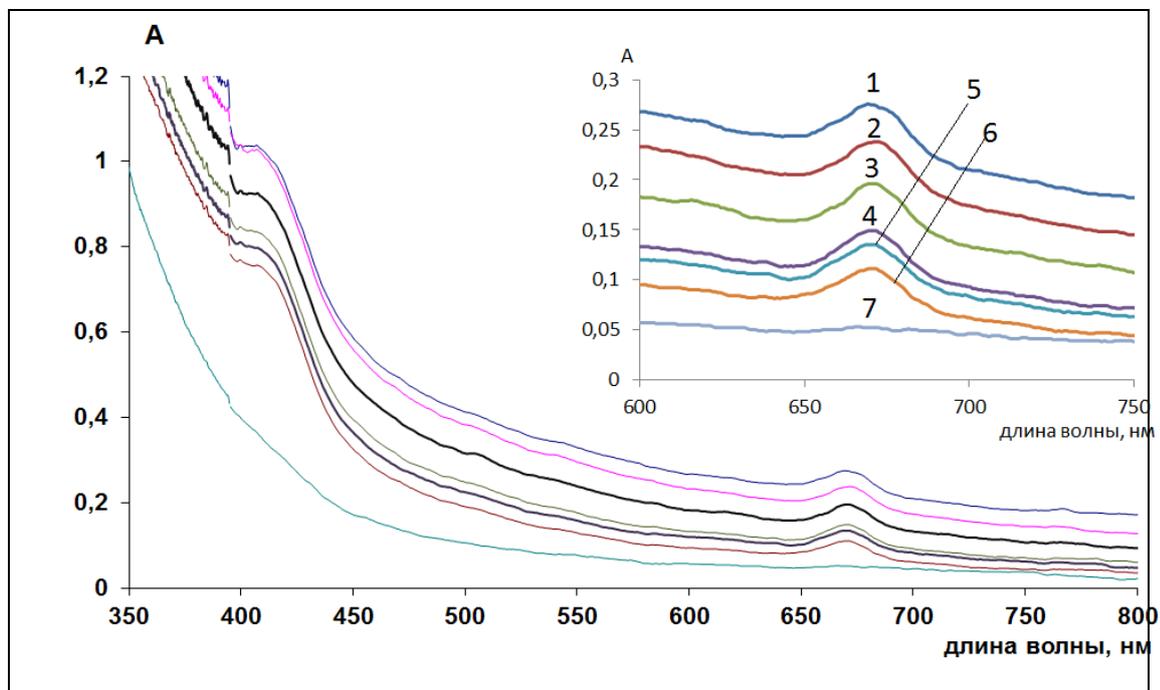


Рисунок 11. Изменения спектров оптического поглощения экстрактов бурых водорослей в виде геля в зависимости от дозы (кГр): 1 – исходный; 2 – 0.18; 3 – 0.38; 4 – 0.57; 5 – 0.76; 6 – 0.95; 7 – 22

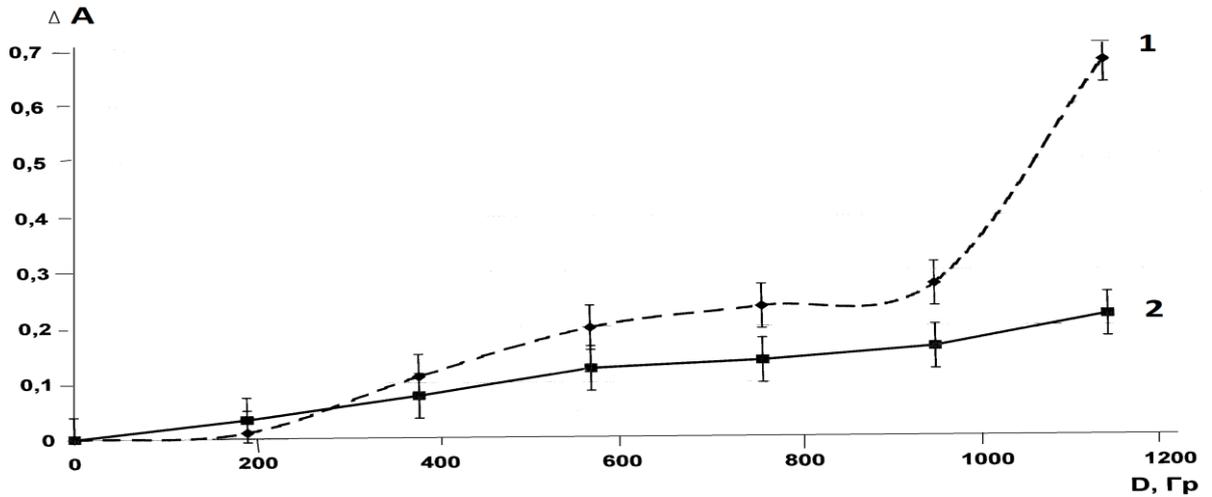


Рисунок 12. Изменение оптической плотности экстрактов в виде геля, полученных из бурых водорослей, в зависимости от дозы при следующих длинах волн (нм): 1 – 410; 2 – 672,6.

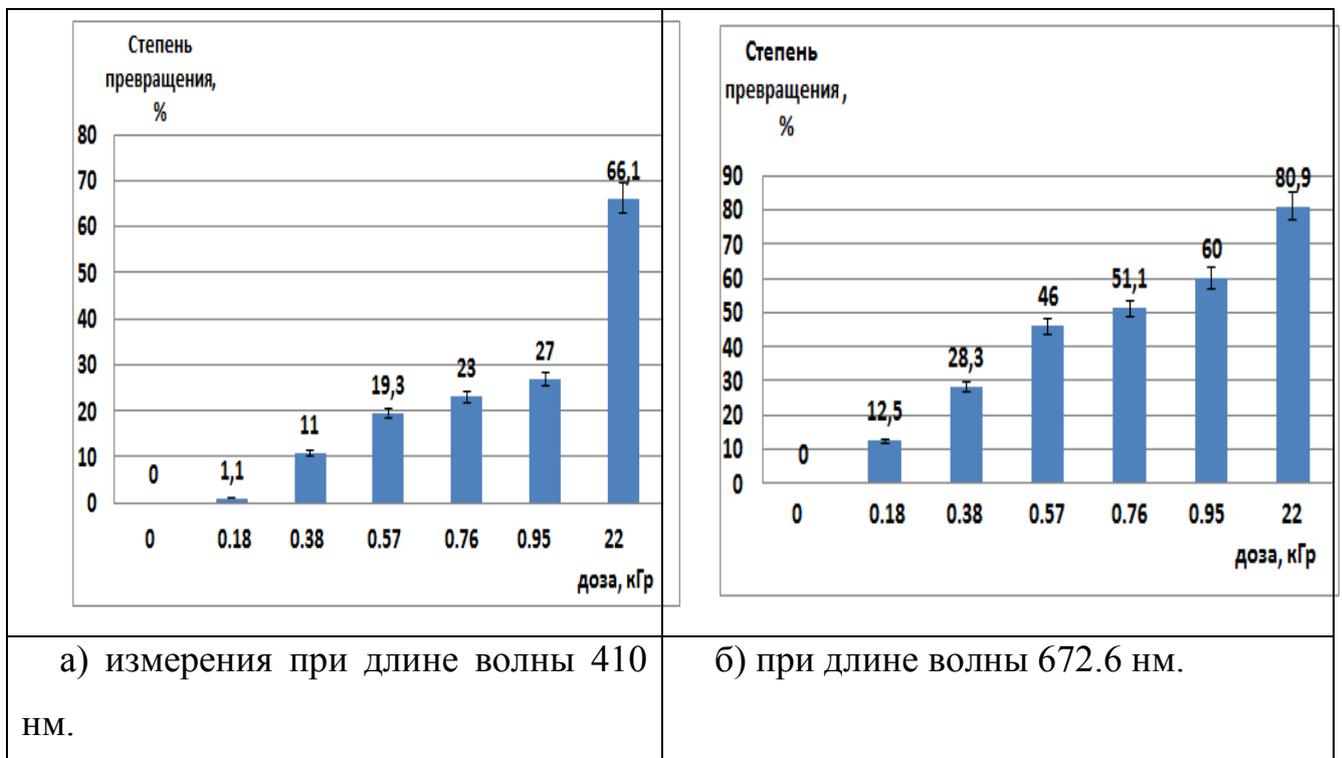


Рисунок 13. Степени превращения экстрактов из геля, полученного из бурых водорослей, от дозы облучения.

Из диаграмм следует, что экстракты чувствительны к действию ионизирующего излучения. Степени превращения рассчитаны из изменения значений оптических плотностей при длинах волн, равных 410 нм и 672.6 нм, соответственно. Надо отметить, что при воздействии ионизирующего излучения дозой 0.18 кГр степени превращения равны 1,1 % (410 нм) и 12,5 % (672,6 нм). Полоса поглощения при 410 нм более радиационно устойчива, приблизительно в 10 раз. При дальнейшем влиянии радиации на систему степени превращения отличаются приблизительно в 2 раза, при 672,6 нм полоса более радиационно-чувствительна.

Важную роль для реализации поставленной задачи имеет способ концентрирования биологически активных веществ и создана оригинальная установка для его реализации (Патент РФ №2323036). Способ включает подачу первичного раствора в мембранный блок для разделения на очищенный фильтрат и обогащенный растворенными веществами концентрат, который в качестве целевого продукта возвращают в накопительную емкость, что обеспечивает сгущения водных растворов и может быть использовано для концентрации аминокислот.

Создан адаптоген со свойствами сорбента на основе бурых морских водорослей (Патент РФ №2225219), при котором последовательно выполняют предварительную деструкцию и гидролиз, а также добавляют водный раствор соли поливалентного металла пищевой кислоты, что позволяет получать адаптоген со свойствами сорбента в виде стабильного ферментного комплекса с улучшенными органолептическими показателями, способностью к повышению сопротивляемости организма при экстремальных воздействиях и к очищению ЖКТ от шлаков и патогенных грибков и микроорганизмов.

Для повышения эффективности растительных препаратов (Патент РФ №2199335), предложен способ при котором осуществляют гидролиз препаратов в щелочной среде со значением рН 8-14 при температуре в пределах от 10 до 100°C, а также подвергают препараты электролизу постоянным током в процессе или после завершения гидролиза, при необходимости проводят корректировку рН

методом нейтрализации, в результате уменьшается средняя молекулярная масса до оптимальной величины и происходит расщепление полимеров до олиго- и мономеров, не загрязненных посторонними веществами и способных проникнуть через кожный покров или через стенки пищеварительного тракта и послужить в качестве питательных, лечебных, строительных и биологически активных веществ при болезненных состояниях кожных покровов, сниженной пищеварительной активности, нарушениях кислотного баланса и бактериального состава желудочно-кишечного тракта больного человека.

Немаловажным является разработанный биологически активный препарат на основе морского растительного сырья (Патент РФ №2283124), полученный этим способом препарат имеет оптимально сбалансированное содержание и усвоение йода, содержащегося в бурых водорослях, и селена обеспечивающееся наличием спирулины, обогащенной органической формой селена и обладает пролонгированным действием и расширенным диапазоном лечебно-профилактических (функциональных) возможностей включая антиоксидантное и иммуномодулирующее действие, улучшенными органолептическими характеристиками и минимальными противопоказаниями.

Разработан способ производства биологически активных продуктов из бурых морских водорослей (Патент РФ №2343724) этот эффективный и недорогой способ производства гомогенизированных бурых водорослей в виде биологически активного препарата широкого спектра действия, является предпосылкой реализации биотехнологии. Способ позволяет минимизировать потери биологически активных веществ и получить препарат в виде стабильного комплекса с повышенным содержанием биологически активных легкоусвояемых веществ с молекулярной массой от 70 Да до 100 кДа: олиго- и моносахаридов (главным образом маннита), аминокислот и пептидов, нуклеотидов и микроэлементов в виде биогенных соединений, преимущественно с белками и пептидами, увеличенным сроком хранения, повышенной биологической доступностью и усвояемостью йода, пролонгированным действием и с расширенным диапазоном лечебно-профилактических (функциональных)

возможностей включая повышение сопротивляемости организма при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой и эндокринной систем, а также антиоксидантное и иммуномодулирующее действие, с улучшенными органолептическими характеристиками и минимальной вероятностью побочных явлений.

Реализация осуществлена на базе разработанного автором аппаратного обеспечения предлагаемой технологии. Роторно-пульсационный аппарат (Патент на полезную модель №2090253) эта модель аппарата повышает эффективность при переработке бурых водорослей и другого сырья морского происхождения с уменьшением воздействия передаваемых через фланец на насос колебаний привода, обеспечении необходимой подачи насоса, повышении надежности и к.п.д., при снижении до допустимого значения уровня звука и обеспечении безопасности работы обслуживающего персонала.

На базе вивария ГНЦ РФ ИМБП РАН исследованы пребиотические свойства геля, полученного из бурых морских водорослей.

В эксперименте использовались следующие препараты:

Кисломолочные продукты на основе аутологичных штаммов лактобацилл («аутоштаммы»)

Кисломолочный продукт на основе штамма *Lactobacillus acidophilus* («кефир»)

Водоросли бурые гомогенизированные для диетического, лечебного и профилактического питания («водоросли»)

Препарат на основе пребиотика аминокислоты (амбен) в сочетании с пробиотиком на основе двух активных штаммов лактобацилл.

В эксперименте использовали 26 обезьян вида макак-резус. 13 обезьян из их числа массой до 8-ми кг. были высажены в приматологические кресла и в течение 6-ти дней выявляли животных, которые охотно потребляют «кефир». С этой целью использовали специальные поилки. Точно также тестировали обезьян, находившихся в клетках.

На основе этих наблюдений было отобрано 10 обезьян стабильно потребляющие «кефир». В группу «Аутоштаммы» вошли животные №№ 026, 541, 068, 265, 234, в группу - «Кефир» 221, 206, 348, 551, 203.

Поскольку точное дозирование препаратов с использованием поилок вызывало значительные трудности (обезьяны могли и отвлекаться и просто отказываться от потребления препарата, вырывать поилку или выдергивать пробку) было решено добавлять необходимое количество препарата в рацион каш по 50 мл 2 раза в день с промежутком 3,5-4 часа.

Для соблюдения идентичности все обезьяны были высажены в индивидуальные клетки по группам, используемых БАД. Таким образом образовалось 4-е экспериментальные группы, по 5-ть обезьян и группа контроля из 6-ти животных. В группу «Водоросли» вошли животные с №№ 233, 106, 772,305, 171, в группу – «Амбен+билактин» №№ 773,630,134,707,069, в группу «Контроль» №№ 015,164,169,645,326,322.

Курс приема данных препаратов составил 14 дней. Отбор проб фекалий для микробиологических исследований осуществлялся перед курсом приема препарата, на 14 сутки (по окончании курса), а также на 28 сутки исследований. Кроме того, осуществляли клиническое обследование животных.

В исследованиях принимали участие 26 животных из вивария ГНЦ РФ ИМБП РАН. Курс приема данных препаратов составил 14 дней. Отбор проб фекалий для микробиологических исследований осуществлялся перед курсом приема препарата, на 14 сутки (по окончании курса), а также на 28 сутки исследований (Таблица 10).

Таблица 10. Динамика микробиологических показателей

	контроль			Аутоштаммы			Кефир			амбен			водоросли		
Кол-во особей	6			5			5			5			5		
Индекс дисбактериоза	фон	Через 2 недели	Через месяц	фон	Через 2 недели	Через месяц	фон	Через 2 недели	Через месяц	фон	Через 2 недели	Через месяц	фон	Через 2 недели	Через месяц

	1 6	9	16	1 4	1	8	1 0	2	9	1 1	6	10	1 2	8	11
		1,7	0,9		14	1,8		5	1,1		1,8	1,1		1,5	1,1
Динамика															
Положи тельная		12	13		16	16		14	7		18	17		15	13
Отрицат ельная		14	17		4	11		6	13		6	13		12	9
		0,9	0,8		4	1,5		2,3	0,5		3	1,3		1,3	0,7

Полученные данные позволяют заключить, что гель из бурых водорослей может использоваться в комплексном лечении дисбактериоза.

Глава 4. Клинические наблюдения

Представлены некоторые клинические наблюдения 46 пациентов. Проанализированы данные 45 больных (один пациент не явился на повторное обследование). Из них 26 (57,8%) женщины и 19 (42,2%) мужчины в возрасте от 23 до 73 лет. 63,4% пациентов было моложе 55 лет. Половина пациентов (50,0%) использовали только одну упаковку геля. После 8-10-дневного приёма продукта для диетического (лечебного и профилактического) питания из бурых морских водорослей 33 пациента (76,8%) отметили полное исчезновение симптомов или улучшение состояния, не отметили улучшения или ухудшение симптомов – 10 (23,2%).

Более подробно оценив ситуацию после «короткого» курса и прекращения приёма продукта для диетического (лечебного и профилактического) питания из бурых морских водорослей, т.е., учитывая пациентов, которые принимали его дольше, полученные результаты объединены в Таблице 11 и отображены на рисунке 14.

Таблица 11.

Оценка воздействия продукта по общей субъективной самооценке 43 пациентов (Признак 72 и 74) после 8-10 дневного курса (%)

Оценка	Полное исчезновение симптомов (%)	Частичное улучшение (%)	Без улучшения (%)	Ухудшение (%)
Длительность курса и доза				
8-10 дней 500г	25,6 N=11	51,2 N=22	16,3 N=7	6,9 N=3
> 8-10 дней	25,6	48,8	16,3	9,3

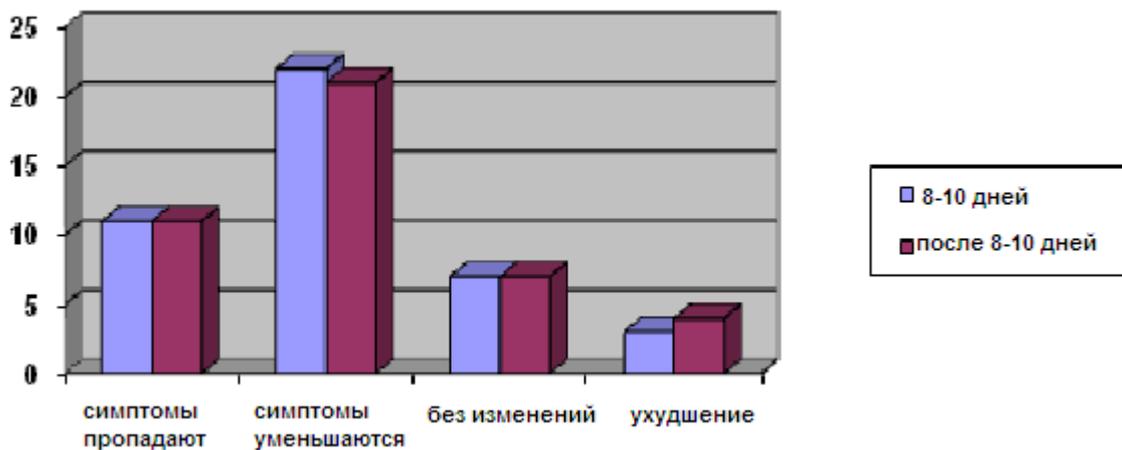
1000 г и >	N=11	N=21	N=7	N=4
------------	------	------	-----	-----

* - число пациентов

У пациентов с нормальным уровнем лейкоцитов крови, без снижения массы тела, при отсутствии сахарного диабета в анамнезе присутствует тенденция ($p=0.07$) отказаться от дальнейшего приёма продукта после 8-10 – дневного курса.

Рисунок 14

Оценка воздействия продукта по общей субъективной самооценке 43 пациентов (Признак 72 и 74) после 8-10 дневного курса и всего в процентах (%)



Анализ факторов, которые могли повлиять на действие геля

С помощью дискриминантного анализа проведено сравнение факторов, которые могли бы повлиять на действие продукта в течение 8-10-дневного курса. Для этого изучена динамика в группе пациентов, отметивших улучшение ($n=33$) и в группе без субъективного улучшения ($n=10$).

Улучшение не наблюдалось у пациентов, у которых отсутствовал в анамнезе сахарный диабет ($p=0,02$), с нормальным уровнем лейкоцитов в крови ($p=0,05$), без уменьшения массы тела ($p=0,03$) и отсутствием боли в эпигастральной области ($p=0,03$), т.е., у «более здоровых» пациентов.

С помощью дискриминантного анализа сравнены факторы, которые могли бы повлиять на действие продукта в течение более длительного срока, и полученные результаты сопоставимы с результатами 8-10-дневного курса: улучшение не наблюдалось у пациентов, у которых не было в анамнезе сахарного диабета ($p=0,02$), отмечен нормальный уровень лейкоцитов в крови ($p=0,02$), не было снижения массы тела ($p=0,02$) и не отмечался болевой синдром в эпигастральной области ($p=0,03$).

Выводы

1. Представлена аппаратно-технологическая схема, позволяющая создавать продукты для диетического (лечебно-профилактического) питания из бурых морских водорослей без использования консервантов, антиокислителей, стабилизаторов, ультразвуковой обработки и промышленных ферментов. Данная схема является концептуальной основой в биотехнологии бурых морских водорослей при производстве продуктов для диетического (лечебного и профилактического) питания. Патент 2323600 Способ производства геля из бурых водорослей для диетического и профилактического питания / Одинец А.Г. - Гос. реестр изобретений РФ 25.04.2006, срок действия 25.05.2026 г. Патент 2343724 Способ производства биологически активных продуктов из бурых водорослей / Одинец А.Г. - Гос. реестр изобретений РФ 08.05.07, срок действия 08.05.2027 г.

2. Разработан способ деструкции клеточной стенки при переработке бурых морских водорослей с сохранением термолабильных нутриентов: сульфатированных полисахаридов (фукоидан), антиоксидантов и витаминов.

3. Разработаны технологические способы производства, сохраняющие нативную микрофлору продукта и показана возможность использования её в качестве фактора консервации. Гарантийный срок хранения продукта при 0...+4⁰С 6 месяцев при содержании КМАФА 10³-10⁵.

4. Исследован состав сульфатированных полисахаридов в конечном продукте. Доказана сохранность в готовом продукте до 90% фукоидана относительного исходного сырья.

5. Доказана радиопротекторная и пробиотическая активность полученных продуктов. Дезагрегации частиц геля не выявлено при воздействии ионизирующего излучения в дозе до 30кГр. Показано, что препарат на основе

бурых морских водорослей может использоваться в комплексе средств лечебного питания при коррекции дисбактериоза.

6. Изучена антиоксидантная активность сырья и продукта.

7. Изучен механизм противовирусной активности фукоидана на примере взаимодействия с вирусом гриппа H5N1. Доказана непосредственная необратимая адгезия фукоидана на поверхности вирусных частиц.

8. Проведены клинические наблюдения эффективности предложенного препарата. После 8-10-дневного приёма продукта для диетического (лечебного и профилактического) питания из бурых морских водорослей 33 пациента (76,8%) отметили полное исчезновение симптомов или улучшение состояния, не отметили улучшения или ухудшение симптомов – 10 больных (23,2%).

Практические рекомендации

Гомогенизированный гель из бурых морских водорослей рекомендуется (Одобрено НИИ Питания РАМН Экспертное заключение № 72/э-2163и-04 от 15.07.2004 г. Регистрационное удостоверение № 77.99.11.4.У.2184.9.04. от 01.09.2004 г. СЭЗ №77.99.11.004.Т.001550.08.04 от 31.08.2004 г.) использовать внутрь: 100-150 мг в сутки на 2-3 приема за 30 минут до еды, в течение 1-2 месяцев. Наружно наносить в виде аппликаций на область суставов, поверхность варикозных вен, 2-3 раза в день в чистом виде или в комбинации с другими мазями (предварительно смешав их в соотношении 1:10), курс лечения 1-2 месяца. Гомогенизированный гель из бурых морских водорослей в значительной степени ликвидирует возникшие нарушения и создает оптимальные условия для жизнедеятельности клеток и органов человека. При этом существенно увеличивается сопротивляемость организма болезням и эффективность лечения лекарственными средствами или другими биологически активными веществами.

Список литературы

1. Аминаина Н.М., Вишневская Т.И. Исследование процессов экстракции биогенных и токсичных элементов из бурых водорослей, произрастающих в различных по загрязненности акваториях японского моря. Известия ТИНРО (Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра). 2011; Т. 164:384-391.
2. Аминаина Н.М., Вишневская Т.И., Галанин Д.А., Репникова А.Р., Гурулёва О.Н. Характеристика промысловых запасов сахарины японской в заливе Анива (Охотское море). Известия ТИНРО (Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра). 2014; Т. 178:116-123.
3. Аминаина Н.М., Конева Е.Л., Якуш Е.В. Пребиотические свойства альгинатсодержащих продуктов переработки водорослей. Рыбпром: технологии и оборудование для переработки водных биоресурсов. 2010; № 3:51-53.
4. Аминаина Н.М., Подкорытова А.В. Сезонная динамика химического состава *Laminaria japonica*, культивируемой у берегов Приморья. Растительные ресурсы. – 1992. – Т. 28, вып.3. – С. 137–140.
5. Беседнова Н.Н. Морские гидробионты – потенциальные источники лекарств. Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2014; Т. 57. № 3:4-10.
6. Богданов В.Д., Сафронова Т.М. Структурообразователи и рыбные композиции. – М.: ВНИРО, 1993. – 172 с.
7. Борисочкина Л.И., Кутузова Н.А. Производство пищевой продукции из морской капусты. Экспрес-информация ЦНТИИТЭИРХ. – 1987. – Вып.1. - С. 1–13. Сер. Обработка рыбы и морепродуктов.
8. Брок Т. Мембранная фильтрация – М.: Мир, 1984. – 53 с.
9. Булгаков С.А. Альгинаты в купировании клинических проявлений диспепсии и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. Фарматека. 2012; № 17 (250):78-82.

10. Вафина Л.Х., Подкорытова А.В. Биотехнология комплексной безотходной переработки бурых водорослей. В сборнике: Международная научно-практическая конференция "Биотехнология и качество жизни". Материалы конференции. 2014. С. 343-344.

11. Вишневская Т.И., Аминина Н.М., Гурулева О.Н. Разработка технологии получения йодсодержащих продуктов из ламинарии японской. Известия ТИНРО (Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра). 2001; Т. 129:163-169.

12. Вишневская Т.И., Кадникова И.А., Конева Е.Л., Гурулева О.Н., Аминина Н.М. Оценка состояния безопасности бурых водорослей прибрежных вод Дальнего Востока. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013; Т. 15. № 3-6:1741-1744.

13. Взоров А.Л., Никитков В.А., Жген А.Н. Стабилизаторы в производстве майонезов и маргаринов // Пищевая промышленность. – 1997. – № 12. – С.28–31.

14. Возжинская В.Б., Лучина Н.П., Максимова О.В. Разработка биотехнологии интенсивного культивирования водорослей–агарофитов с применением ПФЭ (планируемого факторного эксперимента) // Тез. докладов кон-ции «Биотехнология и искусственный риф». – М.: ВНИРО, 1986.– С. 18–23

15. Возжинская В.Б., Камнев А.Н. Экологобиологические основы культивирования и использование морских донных водорослей. – М.: Наука, 1994.–202 с.

16. Воронова Ю.Г. Чмирова Ю.И., Нехеенко А.П. Использование культивируемой ламинарии в производстве кондитерских изделий // Тез. докладов Всесоюзной конференции «Научно– технические проблемы мари-культуры в стране». – Владивосток, 1989.– С 194–195.

17. ГОСТ 26–185–84. Водоросли морские, травы морские и продукты их переработки. Методы анализа. – М.: Изд–во «Стандарт», 1984. – 53 с.

18. Гурулева О.Н., Аминина Н.М. Исследование моносахаридного состава в процессе экстракции фукоидана из *Laminaria japonica*. В сборнике: Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. Материалы

VI Всероссийской конференции с международным участием. Под редакцией Н.Г. Базарновой, В.И. Маркина. 2014. С. 67-69.

19. Гурулева О.Н., Аминина Н.М. Исследование содержания фукоидана в бурых водорослях дальневосточного региона. Известия ТИНРО (Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра). 2013; Т. 172:265-273.

20. Данилец М.Г., Бельский Ю.П., Бельская Н.В., Трофимова Е.С., Учасова Е.Г., Лигачева А.А., Иванова А.Н., Ковалев В.В., Хотимченко Ю.С. Влияние альгината кальция на ТН1 и ТН2 иммунный ответ. Биомедицина. 2011; Т. 1. № 3:125-132.

21. Долматова М.Ю., Пантелеева А.П. Исследование некоторых ионно-обменных свойств альгиновой кислоты и ее взаимодействие с двух- и трехвалентными катионами. Радиохимия; 1968; Вып. 10; №3: 15–19.

22. Еляков Г.Б., Стоник В.А. Морская биоорганическая химия – основа морской биотехнологии. Изв. РАН. Сер. хим. 2003; № 1: 1-18.

23. Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н., Кузнецова Т.А., Звягинцева Т.Н., Макаренкова И.Д., Крыжановский С.П., Мельников В.Г. Пребиотический потенциал полисахаридов и экстрактов водорослей. Биология моря. 2014; Т. 40. № 1:3-11.

24. Запорожец Т.С., Ермакова С.В., Звягинцева Т.Н., Беседнова Н.Н. Противоопухолевые эффекты сульфатированных полисахаридов из морских водорослей.

Успехи современной биологии. 2013; Т. 133. № 4:378-391.

25. Запорожец Т.С. Клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия биополимеров морских гидробионтов: дис. ... докт. мед. наук. г. Владивосток. 2006. 352 с.

26. Зимина Л.С., Подкорытова А.В. Определение глутаминовой кислоты водорослях. Изв. ТИНРО. 1976; Т. 99: 19–22.

27. Евтушенко В.А., Назарьева Е.В. К вопросу о химической природе альгиновой кислоты. Тез. докладов «Радиационная и химическая экология гидробионтов. – Киев: Наук. думка, 1972. – С. 85–90.

28. Имбс Т.И., Харламенко В.И., Звягинцева Т.Н. Оптимизация процесса экстракции фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescence*. Химия растительного сырья. 2012; № 1: 143-147.

29. Кадникова И.А., Аминина Н.М., Мокрецова Н.Д. Использование *Laminaria (Saccarina) japonica* в составе кормов для молоди трепанга, полученной в искусственных условиях. Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. 2014; № 10: 50-57.

30. Кадникова И.А., Аминина Н.М., Рогов А.М. Ферментативная обработка морских водорослей – перспективный способ получения кормовых добавок для марикультуры. В сборнике: Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. Материалы VI Всероссийской конференции с международным участием. под редакцией Н.Г. Базарновой, В.И. Маркина. 2014:415-416.

31. Кадникова И.А., Аминина Н.М., Щербакова Н.С. Качество и безопасность промысловых водорослей японского моря. Известия ТИНРО (Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра). 2013; Т. 175: 314-320.

32. Кизеветгер И.В., Грюнер В.С., Евтушенко В.А. Переработка морских водорослей и других промысловых водных растений. – М.: Пищ. промышленность, 1967.–416 с.

33. Кизеветгер И.В. Биохимия сырья водного происхождения. – М.: Пищ. пром–сть, 1973. – 424с.

34. Кизеветгер И.В. Технологические аспекты рационального и комплексного использования морского животного и растительного сырья // в сборнике «Использование биологических ресурсов Мирового океана». – М., 1980.– С. 97–105.

35. Кизеветтер И.В., Суховеева М.В., Шмелькова А.П. Промысловые морские водоросли и травы дальневосточных морей. – М.: Лег. и пищ. пром-сть, 1981. - 113с.

36. Ковалев В.В., Хотимченко М.Ю., Хотимченко Ю.С. Способ получения альгината кальция. Патент на изобретение RUS 2395525 30.10.2008.

37. Ковалева Е.А., Вишневская Т.И., Подкорытова А.В. Разработка технологии вкусовой быстрорастворимой приправы из *Laminaria japonica*. Изв. ТИНРО; 1999; Т. 125: 462–467.

38. Конева Е.Л., Аминина Н.М., Якуш Е.В. Бифидогенные свойства продуктов переработки бурых водорослей. Известия ТИНРО (Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра). 2010; Т. 161: 303-308.

39. Константинова Н.Ю., Подкорытова А.В. Влияние способов консервирования на свойства альгинатов и других биологически активных веществ ламинарии японской // Тез. всесоюз. совещ. «Биологически активные вещества гидробионтов – новые лекарственные, лечебно–профилактические и технические препараты». – Владивосток, 1991. – С. 108–109.

40. Корзун В.П., Волкова Н.Н., Парап А.Н. Лечебно–профилактическое применение пищевых продуктов из ламинарии в условиях радиоактивного загрязнения местности // Тез. докладов Всесоюзного совещания «БАВ гидробионтов – новые лекарственные, лечебно профилактические и технические препараты». – Владивосток, 1987.– С. 37.

41. Корзун В.П., Сагло В.И., Парац А.Н., Дервяго И.Б., Воронова Ю.Г. Возможности использования продуктов моря для профилактики накопления в организме радионуклидов цезия и стронция // Тез. докладов совещания «Научно–технические проблемы марикультуры в стране».– Владивосток: ТИНРО, 1989.– С. 200–201

42. Корзун В.И., Сагло В.И., Карачев И.И., Воронова Ю.Г., Подкорытова А.В. Возможности использования продукции марикультуры в профилактике внутреннего облучения // Проблемы радиационной медицины.– Киев, 1992. – С. 120–124.

43. Коротаев Г.К., Членов М.А., Кирьянов А.В. Модифицированный альгинат кальция – высокоэффективное средство выведения радиоактивного стронция. Радиобиология; 1992; Т. 32; вып. 1: 126–129.

44. Крыжановский С.П., Богданович Л.Н., Беседнова Н.Н., Иванушко Л.А., Головачева В.Д. Гиполипидемические и противовоспалительные эффекты

полисахаридов морских бурых водорослей у пациентов с дислипидемией. *Фундаментальные исследования*; 2014; № 10: 93.

45. Кузнецова Т.А., Запорожец Т.С., Макаренкова И.Д., Тимченко Н.Ф., Беседнова Н.Н., Звягинцева Т.Н., Шевченко Н.М., Мандракова Н.В., Мельников В.Г. Пребиотический потенциал полисахаридов из бурой водоросли *Fucus evanescens* и значение для клинического использования. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2012; № 1: 37-40.

46. Кузнецова Т.А., Макаренкова И.Д., Конева Е.Л., Аминина Н.М., Якуш Е.В. Влияние пробиотического продукта, содержащего бифидобактерии и биогель из бурых водорослей, на кишечную микрофлору и показатели врожденного иммунитета у мышей с экспериментальным лекарственным дисбактериозом кишечника. *Вопросы питания*. 2015; Т. 84; № 1: 73-79.

47. Кушнерова А.А., Кожухова М.А., Рыльская Л.А. Альгинаты как полифункциональные ингредиенты в составе желированных продуктов. В книге: *Хлебобулочные, кондитерские и макаронные изделия XXI века IV Международная научно-практическая конференция*. 2015. С. 206-208.

48. Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г., Кушнерова Т.В., Хотимченко Ю.С., Кондратьева Е.В., Другова Л.А. Экстракт из бурой водоросли *Laminaria japonica* - перспективный стресс-протекторный препарат. *Биология моря*. 2010; Т. 36; № 3: 215-220.

49. Кушнерова Т.В., Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Лесникова Л.Н., Хотимченко Ю.С., Кондратьева Е.В. Антиоксидантные и мембранопротекторные свойства экстракта из бурой водоросли *Laminaria japonica*. *Биология моря*. 2010; Т. 36; № 5: 384-389.

50. Лыков А.В. Теория сушки. – М.: Гиздекпром, 1950. – 156 с.

51. Лыков А.В., Грязнов А.А. Молекулярная сушка. – М.: Пищепроиздад, 1956.–326 с.

52. Макаренкова И.Д., Дерябин П.Г., Львов Д.К., Звягинцева Т.Н., Беседнова Н.Н. Противовирусная активность сульфатированного полисахарида из бурой

водоросли *Laminaria japonica* в отношении инфекции культур клеток, вызванной вирусом гриппа А птиц (H5N1). Вопросы вирусологии. 2010; Т. 55; № 1: 41-45.

53. Макаренкова И.Д., Леонова Г.Н., Майстровская О.С., Звягинцева Т.Н., Имбс Т.И., Ермакова С.П., Беседнова Н.Н. Противовирусная активность сульфатированных полисахаридов из бурых водорослей при экспериментальном клещевом энцефалите. Тихоокеанский медицинский журнал. 2012; № 1:44-46.

54. Макарова К.Е., Хожаенко Е.В., Ковалев В.В., Подкорытова Е.А., Хотимченко Р.Ю. Альгинаты с различными молекулярными массами как сорбенты ионов кадмия и свинца. Известия Самарского научного центра Российской академии наук; 2013; Т. 15; № 3-6: 1841-1844.

55. Мартыяс Е.А. Биологическая активность липидов и фотосинтетических пигментов водорослей Дальневосточных морей. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Тихоокеанский институт биоорганической химии Дальневосточного отделения Российской академии наук. Владивосток, 2012. -25 с.

56. Мирошниченко В.А., Янсонс Т.Я., Полушин О.Г. Дифференцированный подход к выбору тактики лечения гастродуодальной патологии с применением биологически активных веществ морских гидробионтов // Тез. докладов Всесоюзного совещания «Биологически активные вещества при комплексной утилизации гидробионтов». – Владивосток, 1988.– С. 146–150.

57. Нечаев А.П., Кочеткова А.А., Зайцев А.Н. Пищевые добавки: учебно–методическое пособие. – М.: Издательский комплекс МГУПП, 1999. – 71 с.

58. Облучинская Е.Д. Технология комплексной переработки бурых водорослей. Фармация. 2014; № 4:49-51.

59. Пантелеева А.П. Некоторые закономерности взаимодействия альгиновой кислоты с катионами металлов // Радиационная и химическая экология гидробионтов. – Киев: Наук. думка, 1972. – С. 112–115.

60. Патент 815707 (Япония). МКИ А23 1/04. Желеобразный продукт из бурых водорослей. Заявлено 11.04.85; Оpubл. 01.09.87; НКИ 426/575.– 98с.

61. Патент 63–38183 Напиток из морских водорослей. – Оpubл. 28. 07.88

62. Патент 40–80144 (Япония) Способ изготовления желе из морских водорослей обработкой солью органической кислоты.– Опубл. 27. 12. 65.

63. Патент 869906 (США). Пищевые волокна из морских водорослей, обладающих ионообменной способностью. – Заявл. 03.06.86; Опубл. 14.02.89; НКИ 424/195.1. – 59 с.

64. Письменный В.В., Колеснов А.Ю. Применение солей лимонной кислоты // Пищевая промышленность. – 1996. – № 2. – С. 12–13.

65. Подкорытова А.В. Разработка технологии получения высокомолекулярного альгината натрия из культивируемой ламинарии японской: Дис. канд. техн. наук. – Владивосток: ТИНРО, 1986. – 162 с.

66. Подкорытова А.В. Влияние условий предварительной обработки морской капусты на выход и качество альгината натрия // Рыб. хоз–во, 1985 – №1– С 73–75.

67. Подкорытова А.В., Аминина Н.М., Ковалева Е.А. Комплексная переработка ламинарии японской при производстве сублимированной продукции // Проблемы технологии переработки нетрадиционного сырья их объектов дальневосточного промысла. – Владивосток: ТИНРО, 1989. – С. 116–121.

68. Подкорытова А.В., Аминина Н.М., Ковалева Е.А. Изменение сорбционной активности альгиновой кислоты при получении лечебно – профилактических продуктов // Изв. ТИНРО – 1992. – Т. 114. – С. 146–149.

69. Подкорытова А.В., Ковалева Е.А., Аминина Н.М. Способ получения пищевого полуфабриката из ламинариевых водорослей: Патент № 2041656 от 20.08.95.

70. Подкорытова А.В., Аминина Н.М., Левачёв М.М., Мирошниченко В.А. Функциональные свойства альгинатов и их использование в лечебно-профилактическом питании. Вопросы питания. 1998; № 3:26.

71. Подкорытова А.В., Вафина Л.Х., Шашкина И.А. К вопросу об организации производства лечебно-профилактических биогелей из бурых водорослей и обеспечении их качества и безопасности. Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2014; Т. 57. № 3:44-46.

72. Поздняковский В.М. Гигиенические основы питания и экспертизы продовольственных товаров: Учебник. – Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 1996.– 432 с.
73. Промысловые водоросли СССР: Справочник / Под ред. Возжинской.М.: Пищ. пром-сть, 1971.–С. 31–41.
74. Разина Т.Г., Рыбалкина О.Ю., Лопатина К.А., Амосова Е.Н., Зуева Е.П., Хотимченко М.Ю., Хотимченко Ю.С. Сравнительная оценка эффективности различных форм альгинатов в условиях онкологического эксперимента. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2011; Т. 152. № 8:191-196.
75. Райхенберг Д. Селективность ионного обмена // Ионный обмен. – М.: Мир, 1968.–С. 104–169.
76. Рассел Р. Радиоактивность и пища человека. – М., 1971. – 86 с.
77. Родина ТТ., Вукс Г.А. Дегустационный анализ продуктов. – М.: Колос, 1994. – 192 с.
78. Саенко Г.Н., Корякова М.Д., Макиенко В.Ф. и др. Концентрация поливалентных металлов морскими водорослями в заливе Восток // Морская биология. – 1976. – Т. 34. – С. 169–176.
79. Сарочан В.Ф. Ламинариевые водоросли прибрежных вод малой Курильской гряды // Тез. докладов всесоюз. совещ. «Биологические ресурсы морей Дальнего Востока». – Владивосток, 1975. – С. 102–103.
80. Слезка И.Е., Мирошниченко В.А., Вострикова О.Г. Применение биологически активных веществ морских гидробионтов с целью профилактики атеросклероза у детей // Тез. докладов Российской научной конф-ции «Новые биомедицинские технологии с использованием биологически активных добавок». – Владивосток, 1998. – С.90–94.
81. Стоник В.А. Фундаментальные исследования природных соединений на Дальнем Востоке России. Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук; 2010; № 5: 113-124.
82. Сургутский В.П. Химия пищевых продуктов в 2 – х томах, т .1, 320с., Красноярск: из-во Гротекс: 1997.

83. Суховеева М.В., Шмелькова Л.П. Новые виды сырья и перспективы их использования водорослевой промышленностью. Промысловые водоросли и их использование. – М.: ВНИРО, 1981. – С. 39–44.

84. Технология обработки водного сырья. – М.: Пищ. пром-сть, 1976. - 692с.

85. Трухин Н.В. Современная технология обработки морских водорослей: Экспрес-информация // ЦНИИТЭИРХ.– М., 1981. – вып.12, – С.13–14.– Сер Обработка рыбы и морепродуктов.

86. Тутельян В.А., Суханова Б.П., Австриевский А.Н., Позняковский В.М. Биологически активные добавки в питании человека. – Томск: Изд-во НТЛ, 1999.–296 с.

87. Тхан Т., Ревина А.А., Лозина С.С., Магомедбеков Э.П. Оптические свойства ацетоновых экстрактов из бурых водорослей *Laminaria japonica* и их радиационная стабильность. Успехи в химии и химической технологии. 2014; Т. 28. № 6 (155):98-100.

88. Усов А.И., Билан М.И. Фукоиданы – сульфатированные полисахариды бурых водорослей. Успехи химии; 2009; Т. 78; № 8: 846-862.

89. Ушакова Н.А., Морозевич Е.Е., Устюжанина Н.Е., Билан М.И., Усов А.И., Нифантьев Н.Э., Преображенская М.Е. Антикоагулянтная активность фукоиданов из бурых водорослей. Биомедицинская химия; 2008; Т. 54; № 5: 597-606.

90. Хотимченко Ю.С. Углеводные биополимеры для адресной доставки белковых препаратов, нуклеиновых кислот и полисахаридов. Тихоокеанский медицинский журнал. 2014; № 2:5-13.

91. Хотимченко Ю.С. Противоопухолевые свойства некрахмальных полисахаридов: каррагинаны, альгинаты, пектины. Биология моря. 2010; Т. 36; № 6:399-409.

92. Хотимченко Ю.С. Биологически активные вещества из морских гидробионтов – источник новых фармацевтических субстанций и лекарств. Тихоокеанский медицинский журнал. 2010; № 2:5-9.

93. Чмыхалова В.Б. Содержание альгинатов у камчатских представителей *Fucus evanescens*. Вестник Камчатского государственного технического университета. 2012; № 19:48-51.

94. Чмыхалова В.Б. Сезонные изменения содержания сухих веществ в камчатской бурой водоросли *Fucus evanescens*. Вестник Камчатского государственного технического университета; 2010; № 12:32-38.

95. Швидкая З.П., Блинов Ю.Г. Технология и химия консервов из нерыбных объектов промысла дальневосточного бассейна. – Владивосток: ТИНРО,1998.– 118с.

96. Шевченко Н.М. Строение, биологическая активность полисахаридов некоторых бурых водорослей и продуктов их ферментативной трансформации: дис. ... канд. хим. наук. Владивосток. 2001. 93 с.

97. Шубцова И.Г., Кудашова Р.В., Гликман С.А. Влияние различных щелочей на прочность студней экстрактируемого агара // Изв. вузов, пищ. технология. – 1964.– № 4 – С. 63–65

98. Adalbjörnsson BV, Jónsdóttir R. Enzyme-Enhanced Extraction of Antioxidant Ingredients from Algae. *Methods Mol Biol.* 2015; 1308:145-50. doi: 10.1007/978-1-4939-2684-8_8.

99. Adamcik, J., Klinov, D.V., Witz, G., Sekatskii, S.K., Dietler, G. Observation of single-stranded DNA on mica and highly oriented pyrolytic graphite by atomic force microscopy *FEBS Letters*; 2006; 580 (24): 5671 – 5675.

100. Ahmadi A, Zorofchian Moghadamtousi S, Abubakar S, Zandi K. Antiviral Potential of Algae Polysaccharides Isolated from Marine Sources: A Review. *Biomed Res Int.* 2015; 2015:825203. doi: 10.1155/2015/825203. Epub 2015 Sep 21. Review.

101. Ahmed AB, Adel M, Karimi P, Peidayesh M. Pharmaceutical, cosmeceutical, and traditional applications of marine carbohydrates. *Adv Food Nutr Res*; 2014; 73:197-220. doi: 10.1016/B978-0-12-800268-1.00010-X. Review.

102. Ahn IS, Do MS, Choi BH, Kong CS, Kim SO, Han MS, Park KY. Reduced leptin secretion by fucoidan-added Kochujang and anti-adipogenic effect of fucoidan in

mouse 3T3-L1 adipocytes. *The Korean Journal of Food Science and Nutrition*; 2006; 11:31–35.

103. Akhtar MS, Bhakuni V. Streptococcus pneumoniae hyaluronate lyase contains two noncooperative independent folding/unfolding structural domains: characterization of functional domain and inhibitors of enzyme. *J Biol Chem*; 2003; 278(28):25509–25516. doi: 10.1074/jbc.M301894200.

104. Ale MT, Mikkelsen JD, Meyer AS. Important determinants for fucoidan bioactivity: a critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Mar Drugs*; 2011; 9(10):2106-30. doi: 10.3390/md9102106. Epub 2011 Oct 24. Review.

105. Álvarez-Muñoz D, Rodríguez-Mozaz S, Maulvault AL, Tediosi A, Fernández-Tejedor M, Van den Heuvel F, Kotterman M, Marques A, Barceló D. Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in macroalgae, bivalves, and fish from coastal areas in Europe. *Environ Res*; 2015; 143(Pt B):56-64. doi: 10.1016/j.envres.2015.09.018. Epub 2015 Sep 26.

106. Andrade, L. R., Salgado, L. T., Farina, M., Pereira, M. S., Mourao, P. A.S., Gilberto Filhoc, G. M. A., Ultrastructure of acidic polysaccharides from the cell walls of brown algae. *Journal of Structural Biology* 2004, 145: 216–225.

107. Atashrazm F, Lowenthal RM, Woods GM, Holloway AF, Dickinson JL. Fucoidan and cancer: a multifunctional molecule with anti-tumor potential. *Mar Drugs*; 2015; 13(4):2327-46. doi: 10.3390/md13042327. Review.

108. Balboa EM, Conde E, Moure A, Falqué E, Domínguez H. In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chem*; 2013; 138(2-3):1764-85. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.026. Epub 2012 Nov 16. Review.

109. Barbot YN, Thomsen C, Thomsen L, Benz R. Anaerobic Digestion of Laminaria japonica Waste from Industrial Production Residues in Laboratory- and Pilot-Scale. *Mar Drugs*; 2015; 13(9):5947-75. doi: 10.3390/md13095947.

110. Berteau O., Mullou B. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes

active toward this class of polysaccharide. *Glycobiology*; 2003. Vol. 13, No. 6. P. 29–40.

111. Bird G.M., Haas P. On the nature of the cell wall constituents of *Laminaria* sp. Mannuronic acid // *Biochem J.* – 1981. – Vol. 7, No 25. – P. 403–410.

112. Black W.A.P. The seasonal variation in the combined L–fucose content of the common British *Laminariceae* and *Fucaceae*. *J. Sci. Food and Agr.*; 1954; vol.5;№9: 445.

113. Black W.A.P. Concentration gradients and their significance in *Laminaria* *saccharina* (L.) Lamour. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*;1954;Vol. 33; № 1: 49.

114. Chater PI, Wilcox MD, Houghton D, Pearson JP. The role of seaweed bioactives in the control of digestion: implications for obesity treatments. *Food Funct*; 2015; 6(11):3420-7. doi: 10.1039/c5fo00293a. Epub 2015 Sep 29.

115. Chen X., Xing R., Yu H., Liu S., Li P. A new extraction method of fucoidan from the soaked water of brown seaweed (*Laminaria japonica*). *Desalination and Water Treatment*; 2012; T. 40. № 1-6:204-208.

116. Choi JH, Kim DI, Park SH, Kim DW, Kim CM, Koo JG. Effects of sea tangle (*Laminaria japonica*) extract and fucoidan drinks on oxygen radicals and their scavenger enzymes in stressed mouse. *Journal of the Korean Fisheries Society*. 1999;32:764–769.

117. Colin C, et al. The brown algal kelp *Laminaria digitata* features distinct bromoperoxidase and iodoperoxidase activities. *J Biol Chem*; 2003; 278: 23545–2355.

118. Cumashi A., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E. et al. A comparative study of the antiinflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*; 2007. Vol. 17, No. 5. P. 541–552. 2

119. Demmig-Adams B, Adams WWI. Antioxidants in photosynthesis and human nutrition. *Science*; 2002; 298:2149–2153.

120. Ertesvåg H. Alginate-modifying enzymes: biological roles and biotechnological uses. *Front Microbiol*; 2015; 6:523. doi: 10.3389/fmicb.2015.00523. eCollection 2015. Review.

121. Fitton JH, Stringer DN, Karpiniec SS. Therapies from Fucoïdan: An Update. *Mar Drugs*; 2015; 13(9):5920-46. doi: 10.3390/md13095920. Review.
122. Fujitani N, Sakaki S, Yamaguchi Y, Takenaka H. Inhibitory effects of microalgae on the activation of hyaluronidase. *J Appl Phycol*; 2001; 13(6):489–492. doi: 10.1023/A:1012592620347.
123. Gazha AK, Zaporozhets TS, Kuznetsova TA, Zvyaguintseva TN, Besednova NN. Effect of Sulfated Polysaccharides from Brown Algae on Apoptosis of Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Bull Exp Biol Med*; 2015; 159(5):617-9. doi: 10.1007/s10517-015-3028-0. Epub 2015 Oct 13.
124. Glicksman M. Gum technology in the food industry. – New York: Academic Press., 1969. – 69 p.
125. Glicksman M. Utilization of seaweed hydrocolloides. *Hydrobiologia*; 1987; Vol.5; №1: 31–37.
126. Guven K.C., Ozsoy Y., Ulitin O.N. Anticoagulant, fibrinolytic and antiaggregant activity of carrageenans and alginic acid. *Rot. mar.*; 1991; Vol.34: 492–432.
127. Han D., Zhu T., Row K.H. Ultrasonic extraction of phenolic compounds from *Laminaria japonica* aresch using ionic liquid as extraction solvent. *Bulletin of the Korean Chemical Society*; 2011; T. 32. № 7:2212-2216.
128. Haug A. Composition and properties of alginates: Report No 30. – Oslo: Norwegian Inst. of Seaweed Res., 1964. – 123 p.
129. Haug A., Larsen B., Smidsrod O. Studies on the sequence of uronic acid. *Acta Chem. Scand.*; 1967; Vol. 21; № 3: 691–704.
130. Haug A., Smidsrod O. Strontium, calcium and magnesium in brown algae. *Nature*; 1967; Vol. 215; № 5106: 1167–1168.
131. Haug A., Smidsrod O. Selectivity of some anionic polymers for divalent metalions with Ca⁺⁺ and Sr⁺⁺. *Acta Chem. Scand.*; 1970; Vol. 24; № 3: 843–854.
132. Haug A., Larsen B., Smidsrod O. A study of the constitution of alginic acid by partial acid hydrolysis. *Acta Chem. Scand.*; 1967; Vol. 21; № 3: 697–704.

133. Hernández-Corona DM, Martínez-Abundis E, Gonzales-Ortiz M. Effect of fucoidan administration on insulin secretion and insulin resistance in overweight or obese adults. *J Med Food*; 2014;17(7):830-2. doi: 10.1089/jmf.2013.0053.
134. Humphreyses E.R. Preparation of an oligoguluronide from sodium alginate. *Carb. Res.*; 1967; № 4: 216–218.
135. Imbs T.I., Zvyagintseva T.N., Skriptsova A.V. Antioxidant activity of fucose-containing sulfated polysaccharides obtained from *Fucus evanescence* by different extraction methods. *Journal of Applied Phycology*; 2014. DOI: 10.1007/s10811-014-0293-7.
136. Imeson A.P., Ledward D.A., Mitchell J.R. Effects of calcium and pH on spunfibres produced from plasma–alginate mixtures. *Meat Sci.*; 1979; Vol. 3; № 4: 287–284.
137. Jun-O Jin, Qing Yu. Fucoidan delays apoptosis and induces pro-inflammatory cytokine production in human neutrophils. *International Journal of Biological Macromolecules*; 2015; Volume 73: 65-71.
138. Klinov, D., and Magonov, S. True molecular resolution in tapping-mode atomic force microscopy with high-resolution probes. *Appl. Phys. Lett*; 2004; V. 84: 2697–2699.
139. Kyung J, Kim D, Park D, Yang YH, Choi EK, Lee SP, Kim TS, Lee YB, Kim YB. Erratum: Synergistic anti-inflammatory effects of *Laminaria japonica*, fucoidan and *Cistanche tubulosa* extract. *Lab Anim Res*; 2015; 31(3):153. doi: 10.5625/lar.2015.31.3.153. Epub 2015 Sep 30.
140. Li X, Zhao H, Wang O, Liang H, Jiang X. Fucoidan protects ARPE-19 cells from oxidative stress via normalization of reactive oxygen species generation through the Ca²⁺-dependent ERK signaling pathway. *Mol Med Rep.* - 2015; 11(5):3746-52. doi: 10.3892/mmr.2015.3224. Epub 2015 Jan19.
141. McClure, M.O., Moore, J.P., Blanc, D.F., Scotting, P. et al., Investigations into the mechanism by which sulfated polysaccharides inhibit HIV infection in vitro. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 1992, 8, 19-26

142. Mandal P., Mateu C.G., Chattopadhyay K. et al. Structural features and antiviral activity of sulphated fucans from the brown seaweed *Cystoseira indica* // *Antivir. Chem. Chemother*; 2007. Vol. 18, No. 3. P. 153–162
143. Mulloy, B.; Ribeino, A.; Alves, A. Sulfated fucans from echinoderms have a regular tetrasaccharide repeating unit defined by specific patterns of sulfation at the O-2 and O-4 position. *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 22113-22123.
144. Mori N, Nakasone K, Tomimori K. Beneficial effects of fucoidan in patients with chronic hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*; 2012; 18(18): 2225-30. doi:10.3748/wjg.v18.i18.2225.
145. Morya VK, Kim J, Kim EK. Algal fucoidan: structural and size-dependent bioactivities and their perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*; 2012; 93(1):71-82. doi: 10.1007/s00253-011-3666-8. Epub 2011 Nov 17. Review.
146. Moussavou G, Kwak DH, Obiang-Obonou BW, Maranguy CA, Dinzouna-Boutamba SD, Lee DH, Pissibanganga OG, Ko K, Seo JI, Choo YK. Anticancer effects of different seaweeds on human colon and breast cancers. *Mar Drugs*; 2014; 12(9):4898-911. doi: 10.3390/md12094898. Review.
147. Oh Y, Xu X, Kim JY, Park JM. Maximizing the utilization of *Laminaria japonica* as biomass via improvement of alginate lyase activity in a two-phase fermentation system. *Biotechnol J*; 2015; 10(8):1281-8. doi: 10.1002/biot.201400860. Epub 2015 Jul 6.
148. Ouyang J.-M., Wang M., Lu P., Tan J. Degradation of sulfated polysaccharide extracted from algae *Laminaria japonica* and its modulation on calcium oxalate crystallization. *Materials Science and Engineering: C*; 2010; T. 30; № 7:1022-1029.
149. Park MJ, Ryu HK, Han JS. Effects of *Laminaria japonica* extract supplement on blood glucose, serum lipids and antioxidant systems in type II diabetic patients. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*; 2007; 36:1391–1398.
150. Patra JK, Das G, Baek KH. Chemical Composition and Antioxidant and Antibacterial Activities of an Essential Oil Extracted from an Edible

Seaweed, *Laminaria japonica*. *Molecules*; 2015 Jul 2;20(7):12093-113. doi: 10.3390/molecules200712093.

151. Peng Z., Liu M., Fang Z., Zhang Q. In vitro antioxidant effects and cytotoxicity of polysaccharides extracted from *Laminaria japonica*. *International Journal of Biological Macromolecules*; 2012; T. 50. № 5:1254-1259.

152. Prokofjeva M.M., Spirin P.V., Prassolov V.S., Imbs T.I., Shevchenko N.M., Zvyagintseva T.N., Horn S., Fehse B. Fucoïdans as potential inhibitors of HIV-1. *Marine Drugs*; 2013; T. 11; № 8: 3000-3014.

153. Ribeiro, A.; Vieira, R.P.; Mourão, P.A.S. A sulfated α -L-fucan from sea cucumber. *Carbohydr.Res.* 1994, 255, 225-240.

154. Roeder V, et al. Identification of stress gene transcripts in *Laminaria digitata* (Phaeophyceae) protoplast cultures by expressed sequence tag analysis. *J Phycol*; 2005; V.41: 1227–1235.

155. Rosenfeld L. Discovery and early uses of iodine. *J Chem Educ*; 2000; 77: 984–987.

156. Roshan S, Liu YY, Banafa A. Fucoïdan induces apoptosis of HepG2 cells by down-regulating pStat3. *J Huanzhong Univ Sci Technolog Med Sci*; 2014; 34(3):330-6. doi: 10.1007/s11596-014-1278-0. Epub 2014 Jun 18.

157. Ruperez P, Saura Calixto F. Dietary fibre and physicochemical properties of edible Spanish seaweeds. *Eur Food Res Technol*; 2001; 212: 349–354.

158. Senthilkumar K, Kim SK. Anticancer effects of fucoïdan. *Adv Food Nutr Res*; 2014; 72:195-213. doi: 10.1016/B978-0-12-800269-8.00011-7. Review.

159. Shah M, Wuilloud RG, Kannamkumaratha SS, Caruso JA. Iodine speciation studies in commercially available seaweed by coupling different chromatographic techniques with UV and ICP-MS detection. *J Anal Atom Spectrom*; 2005; V.20: 176–182.

160. Shibata T, Fujimoto K, Kohki N, Nagayama K, Yamaguchi K, Nakmura T. Inhibitory activity of brown algal phlorotannin against hyaluronidase. *Int J Food Sci Tech*; 2002; 37(6):703–709. doi: 10.1046/j.1365-2621.2002.00603.

161. Shirosaki M, Koyama T. *Laminaria japonica* as a food for the prevention of obesity and diabetes. *Adv Food Nutr Res*; 2011; 64:199-212. doi: 10.1016/B978-0-12-387669-0.00015-6. Review.
162. Thuy TT, Ly BM, Van TT. Anti-HIV activity of fucoidans from three brown seaweed species. *Carbohydr Polym*; 2015;115:122-8. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.08.068. Epub 2014 Sep 2.
163. Ustyuzhanina N.E., Bilan M.I., Krylov V.B., Usov A.I., Nifantiev N.E., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., Zyuzina K.A., Elizarova A.L., Somonova O.V., Madzhuga A.V., Kiselevskiy M.V. Influence of fucoidans on hemostatic system. *Marine Drugs*; 2013; V.11; 7: 2444-2458.
164. Vadalà M, Palmieri B. [From algae to "functional foods"]. *Clin Ter.*; 2015; 166(4):e281-300. doi: 10.7417/T.2015.1875. [Article in Italian].
165. Wang X, Wang L, Che J, Li Z, Zhang J, Li X, Hu W, Xu Y. Improving the quality of *Laminaria japonica*-based diet for *Apostichopus japonicus* through degradation of its algin content with *Bacillus amyloliquefaciens* WB1. *Appl Microbiol Biotechnol*; 2015; 99(14):5843-53. doi: 10.1007/s00253-015-6583-4. Epub 2015 Apr 17.
166. Wang W, Wang SX, Guan HS. The antiviral activities and mechanisms of marine polysaccharides: an overview. *Marine Drugs*; 2012; 10(12):2795-816. doi: 10.3390/md10122795.
167. Ware JE, Gandek B. Overview of the sf-36 health survey and the international quality of life assessment (IQOLA) project. *J Clin Epidemiol*. 1998; 51: 903–912.
168. Witvrouw, M, De Clercq, E. Sulfated polysaccharides extracted from sea algae as potential antiviral drugs. *Gen Pharmacol*. 1997 Oct; 29(4):497-511.
169. Woo MN, Jeon SM, Kim HJ, Yeo J, Shin YC, Choi MS. Supplementation of fucoxanthin rich-seaweed extract improves lipid profiles and suppresses body fat in mice. *FASEB J*; 2008;22:698.

170. Yan H, Chen X, Li J, Feng Y, Shi Z, Wang X, Lin Q. Synthesis of alginate derivative via the Ugi reaction and its characterization. *Carbohydr Polym*; 2016; 136:757-63. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.09.104. Epub 2015 Oct 1.
171. Yuan Y, Macquarrie DJ. Microwave assisted step-by-step process for the production of fucoidan, alginate sodium, sugars and biochar from *Ascophyllum nodosum* through a biorefinery concept. *Bioresour Technol*; 2015; 198:819-27. doi: 10.1016/j.biortech.2015.09.090. Epub 2015 Oct 3.
172. Zaporozhets, T.S., Kuznetsova, T.A., Smolina, T.P., Shevchenko, N.M., et al., Immunotropic and anticoagulant activity of fucoidan from brown seaweed *Fucus evanescens*: prospects of application in medicine. *J. Microbiol.*; 2006: 54-58.
173. Zha XQ, Lu CQ, Cui SH, Pan LH, Zhang HL, Wang JH, Luo JP. Structural identification and immunostimulating activity of a *Laminaria japonica* polysaccharide. *Int J Biol Macromol*; 2015; 78: 429-38. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.04.047. Epub 2015 Apr 29.
174. Zhang Z., Wang X., Hou Y., Zhang Q., Wang F., Liu X. Extraction of the polysaccharides from five algae and their potential antioxidant activity in vitro. *Carbohydrate Polymers*; 2010; T. 82. № 1:118-121.
175. Zvyagintseva T.N., Shevchenki N.M., Nazarenko E.L., et al. Water-soluble polysaccharides of some brown algae of the Russian Far-East. Structure and biological action of water-soluble polyuronans. *J.Exp.Marine Biol.Ecol*; 2005; 4: 32-39.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ
ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

**Список научных публикаций в рецензируемых журналах,
рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ**

1 Одинец А.Г., Орлов О.И., Ильин В.К., Ревина А.А., Антропова И.Г., Фенин А.А., Татарина Л.В., Прокофьев А.С. Радиопротекторные и антиоксидантные свойства геля из бурых морских водорослей. Вестник восстановительной медицины; 2015; №5: 161-174.

2 Одинец А.Г., Орлов О.И., Ильин В.К., Ревина А.А., Антропова И.Г., Фенин А.А., Татарина Л.В., Прокофьев А.С. Современный подход к созданию новых здоровьесберегающих технологий. Физиотерапевт; 2015; №6: 72-75.

3 Бобровницкий И.П., Сергеев В.Н., Нагорнев С.Н., Михайлов В.И., Яковлев М.Ю., Лебедев В.Б., Одинец А.Г. Диагностический алгоритм исследования и перспективы нутритивно-метаболической коррекции. Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии; 2013; № 3: 44-57.

4 Сергеев В.Н., Бобровницкий И.П., Михайлов В.И., Щербова З.Р., Одинец А.Г., Ревенко В.И. Обоснование состава нутритивно-метаболических средств в реабилитационно-профилактических программах. Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии; 2013; № 4: 83-94.

5 Одинец А.Г., Щербова З.Р., Тарасов А.В., Беличенко О.И. Дифференцированный подход к использованию нутритивно-метаболических средств при хроническом гастродуодените и язвенной болезни 12-перстной кишки на реабилитационном этапе (часть 1). Терапевт; 2013; № 5: 31-40.

6 Одинец А.Г., Щербова З.Р., Тарасов А.В., Беличенко О.И. Дифференцированный подход к использованию нутритивно-метаболических средств при хроническом гастродуодените и язвенной болезни 12-перстной

кишки на реабилитационном этапе (часть 2). Терапевт; 2013; № 7:50-57.

7 Одинец А.Г., Щербова З.Р., Тарасов А.В., Беличенко О.И. Дифференцированный подход к использованию нутритивно-метаболических средств при хроническом гастродуодените и язвенной болезни 12-перстной кишки на реабилитационном этапе (часть 3). Терапевт; 2013; № 8: 16-24.

8 Бобровницкий И.П., Одинец А.Г., Сергеев В.Н. Обоснование использования натуральных продуктов в реабилитационных и профилактических программах при различных заболеваниях. Терапевт; 2009; № 5: 40-45.

9 Михайлов В.И., Одинец А.Г., Маховская Т.Г. Методологические основы антиоксидантной защиты населения от влияния вредных для здоровья экологических и производственных факторов. Справочник врача общей практики; 2009; № 4:43-53.

Монографии

10 Разумов А.Н., Вялков А.И., Козлов В.К., Бобровницкий И.П., Михайлов В.И., Подкорытова А.В., Одинец А.Г., Супрун С.В., Тулупов А.М. Морские водоросли в восстановительной медицине, комплексной терапии заболеваний с нарушением метаболизма. – М.: МДВ, 2008. - 156 с.

11 Разумов А.Н., Бобровницкий И.П., Михайлов В.И., Мостовой С.М., Одинец А.Г., Подкорытова А.В., Хромов В.М., Кудрявцев О.Н. Использование стевиозида и биогеля из морских водорослей в комплексном лечении заболеваний сердца, сосудов, гипертонии и диабета. - М.: «НПО Сумма Технологий», 2005. - 270 с.

12 Разумов А.Н., Бобровницкий И.П., Михайлов В.И., Мостовой С.М., Одинец А.Г., Подкорытова А.В. Влияние геля из бурых морских водорослей на иммунитет, функцию внутренних органов. Технология изготовления, использования для диетического и лечебно-профилактического питания. - М.: «Медицина для всех», 2004.- 239 с.

Патенты на изобретения и полезные модели

13 Патент 2199335 Российская Федерация
СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ
/ Одинец А.Г.; заявл. 2001134282/14, 21.12.2001; опубл. 27.02.2003

14 Патент 2225219 Способ производства адоптогена со свойствами сорбента/
Одинец А.Г.- Гос.реестр изобретений РФ 18.03.03, срок действия 18.03.2023 г.

15 Патент 2246314 Способ производства препарата для фотодинамической
терапии/Одинец А.Г.- Гос.реестр изобретений РФ 20.03.03, срок действия
18.03.2023 г.

16 Патент 2255747 Российская Федерация СПОСОБ ПРОИЗВОДСТВА
АДАПТОГЕНА/ ОдинецА.Г.; заявл. 2003123738/15, 31.07.2003; опубл. 10.07.2005

17 Патент 2283124 Российская Федерация
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЙ ПРЕПАРАТ
НА ОСНОВЕ МОРСКОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ/ Одинец А.Г.; Мазо В.К.;
Кудрявцев О. Н.; заявл. 2005109964/15, 06.04.2005; опубл. 10.09.2006

18 Патент 2317092 Способ оздоровления организма/Одинец А.Г.- Гос.реестр
изобретений РФ 20.02.08, срок действия 11.06.2026 г.

19 Патент 2323036 Российская Федерация
СПОСОБ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ВОДНЫХ
РАСТВОРОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВИ УСТАНОВКА ДЛЯ
ЕГО РЕАЛИЗАЦИИ/ Одинец А.Г.; заявл. 2006121054/15, 15.06.2006; опубл.
27.04.2008

20 Патент 2323600 Способ производства геля из бурых водорослей для
диетического и профилактического питания/Одинец А.Г.- Гос.реестр изобретений
РФ 25.04.2006, срок действия 25.05.2026 г.

21 Патент 2343724 Способ производства биологически активных продуктов из
бурых водорослей/Одинец А.Г.- Гос.реестр изобретений РФ 08.05.07, срок
действия 08.05.2027 г.

22 Патент на полезную модель 55302 Российская Федерация РОТОРНО-
ПУЛЬСАЦИОННЫЙ АППАРАТ/ Одинец А.Г.; заявл. 2006114088/22, 26.04.2006;
опубл. 10.08.2006

Список научных публикаций в других изданиях

23 Использование геля из гомогенизированных бурых морских водорослей для диетического (лечебно-профилактического) питания. Пособие для врачей / Под ред. А.Н. Разумова, И.П. Бобровницкого, В.К. Козлова, С.В. Супрун, Т.А. Князевой, В.М. Михайлова, С.М. Мостового, А.Г. Оди́нца. - М.: Раритет, 2014. – 68 с.

24 Juris Pokrotnieks¹, Aleksey Derovs, Elena Derova, Diana Zandere, Alexei Odinets, Vladimir Mishailov. Seaweed Dietetic Food for the Functional Gastrointestinal Complaint Treatment. Food and Nutrition Sciences; 2013; № 4: 893-907.

25 Бобровницкий И.П., Сергеев В.Н., Нагорнев С.Н., Михайлов В.И., Яковлев М.Ю., Лебедев В.Б., Одинец А.Г., Тарасов А.В. Диагностический алгоритм исследования резервов здоровья пациентов и перспективы нутритивно-метаболической коррекции. Терапевт; 2013; № 3: 65-75.

26 Использование геля из гомогенизированных бурых морских водорослей для диетического (лечебно-профилактического) питания. Медицинская технология / Под ред. А.Н. Разумова, И.П. Бобровницкого, В.К. Козлова, С.В. Супрун, Т.А. Князевой, В.М. Михайлова, С.М. Мостового, А.Г. Оди́нца. - М.: Квадрига, 2011. – 40 с.

27 Козлов В.К., Павлов В.Н., Михайлов В.И., Одинец А.Г. Доклинические исследования иммуностропной активности геля из бурых морских водорослей. Новые медицинские технологии; 2010; № 12: 40-54.

28 Одинец А.Г., Клинов Д.В., Добрынина Т.В., Неретина Т.В., Бобровницкий И.П., Михайлов В.И. Изучение структуры фукоидана (выделенного из *Laminaria japonica*) и механизма его противовирусной активности методом атомно-силовой микроскопии. Новые медицинские технологии / Новое медицинское оборудование; 2010; том 2; № 2: 24-28.

29 Разумов А.Н., Бобровницкий И.П., Михайлов В.И., Одинец А.Г., Супрун С.В., Панащенко Т.И. Использование геля «Ламифарэн» в качестве диетического и лечебно-профилактического питания при соматических заболеваниях,

интоксикации свинцом, иммунодефицитных состояниях. Пособие для врачей. - Москва, 2006. – 68 с.

30 Разумов А.Н., Бобровницкий И.П., Михайлов В.И., Одинец А.Г. Использование пищевого продукта «Ламифарэн» для диетического (лечебного и профилактического) питания в восстановительной медицине и комплексной терапии заболеваний. Методические рекомендации Минздрава России № 2003/123. – М., 2004. - 32 с.

31 Бобровницкий И.П., Михайлов В.И. Одинец А.Г., Использование гомогенизированного геля из бурых морских водорослей для лечебно-профилактического питания при интоксикации свинцом, этанолом, патологии внутренних органов и эндокринной системы. Материалы Международного конгресса: Актуальные проблемы восстановительной медицины, курортологии и физиотерапии. Санкт-Петербург, 2004.- С. 66-67.

32 Бобровницкий И.П., Одинец А.Г., Михайлов В.И. Влияние гомогенизированного геля из бурых морских на восстановление функции внутренних органов, эндокринной системы, течение беременности при интоксикации свинцом и этанолом. Актуальные проблемы восстановительной медицины, курортологии и физиотерапии. - Санкт-Петербург, 2004. - С. 67-68.

33 Бобровницкий И.П., Мостовой С.М., Михайлов В.И., Одинец А.Г. Восстановление и сохранение здоровья с помощью биогеля из морских водорослей «Витальгар», обладающего высокой всасываемостью и усвояемостью организмом человека. Пособие для врачей. - Москва, 2005.- 70 с.

34 Одинец А.Г., Михайлов В.И. Препараты из лекарственных растений, используемые в качестве иммуномодуляторов и иммуностимуляторов. Новые медицинские технологии / Новое медицинское оборудование; 2009; № 4: 32-35.

35 Одинец А.Г., Подкорытова А.В. Морские водоросли и их биоконпоненты — неразлучные спутники биотехнологии. Материалы Пятого московского международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» 16-20 марта 2009 г.- С. 25.