



Метод биотестирования для контроля качества молочного сырья при промышленных режимах термообработки

**Ю. В. Щербакова✉, Ю. В. Семенова, Г. Р. Багаутдинова, К. А. Насрулина,
Ф. Ю. Ахмадуллина**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет»,
г. Казань, Россия, e-mail: balakirevajulia3@mail.ru

Поступила в редакцию: 01.11.2020 г., после доработки: 12.12.2020 г., принята в печать: 16.12.2020 г.

Аннотация – Безопасность продуктов питания и контроль их качества приобретают все более важное значения для сохранения и поддержания здоровья человека на необходимом уровне, обеспечивающем способность сопротивления болезням и преждевременному старению. Представлены результаты исследований по изучению влияния ряда промышленных режимов пастеризации коровьего молока (65°C 30 мин, 76°C 5 мин, 90°C 20 с, 95°C 5 мин) на его антиоксидантную активность методом биотестирования, с использованием в качестве тест-объектов инфузорий *Paramecium caudatum*. В работе определяли стрессоустойчивость тест-объекта по времени обездвиживания инфузорий при воздействии на них оксидативного стресса. В качестве стрессора использовали пероксид водорода, который повреждает преимущественно липидную часть мембраны. Выявлены оптимальные режимы термообработки, обеспечивающие наибольшую сохранность антиоксидантной активности молока и, соответственно, более высокую стрессоустойчивость инфузорий *Paramecium caudatum*: 76°C 5 мин и 90°C 20 с.

Ключевые слова: биотестирование, молоко, пастеризация, антиоксидантная активность, инфузории *Paramecium caudatum*.

Chemical safety of food products

Biotesting approach for quality control of dairy raw materials under industrial heat treatment modes

**Yulia V. Shcherbakova✉, Yulia V. Semenova, Gulnaz R. Bagautdinova,
Kamilla A. Nasrulina, and Farida Yu. Akhmadullina**

Federal State-Funded Educational Institution of Higher Professional Education
«Kazan National Research Technological University», Kazan, Russia,
e-mail: balakirevajulia3@mail.ru

Received: November 1, 2020; Revised: December 12, 2020; Accepted: December 16, 2020

Abstract – Food safety and food quality control are becoming increasingly important factors for preserving and maintaining human health at the level which is necessary for ensuring human ability to resist diseases and premature ageing. The paper presents the results of studying the influence of a number of industrial modes of pasteurization of cow's milk (i.e. 65°C 30 min, 76°C 5 min, 90°C 20 sec, and 95°C 5 min) on milk antioxidant activity by applying a biotesting procedure with the use of ciliates *Paramecium caudatum*. In this work, the stress resistance of the test species has been determined judging by the time of immobilization of the ciliates exposed to oxidative stress. Hydrogen peroxide solution is used as a stressor, which damages mainly the lipid part of the membrane. Two optimal modes of the milk heat treatment have been revealed, which provide the highest preservation of the antioxidant activity of the milk and, accordingly, a higher stress resistance of the ciliates *Paramecium caudatum* (76°C for 5 min and 90°C for 20 sec).

Keywords: biotesting, milk, pasteurization, antioxidant activity, ciliates *Paramecium caudatum*.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что состояние здоровья человека, его работоспособность, поведение, творческая активность, сопротивляемость негативным влияниям окружающей среды в значительной степени зависят от полноценности его питания.

В настоящее время уже недостаточно обеспечить только лишь хорошие органолептические свойства и безопасность продуктов питания – они должны обладать профилактическим действием, предупреждать возникновение болезней, обусловленные отрицательным влиянием окружающей среды [1]. При этом следует учитывать антиоксидантную активность пищевых продуктов. Это важный показатель, который свидетельствует о наличии веществ, предотвращающих протекание свободнорадикальных реакций, повреждающих клетки и ткани организма.

Снижение антиоксидантного статуса организма может понизить иммунитет, привести к возникновению и развитию многих патологических процессов, таких как болезни желудочно-кишечного тракта, сердечнососудистой системы, глазные болезни, и стать причиной преждевременного старения. Кроме того, недостаточность антиоксидантов может привести к онкологическим заболеваниям.

В связи с этим, проблема повышения исследовательской активности в области скрининга изучения пищевых продуктов, богатых антиоксидантами является актуальной.

В первую очередь к таким продуктам следует отнести молоко, обладающее мощной антиоксидантной системой и являющееся незаменимым продуктом в пищевом рационе человека [2].

Однако молоко является скоропортящимся продуктом, поэтому оно подвергается обязательной тепловой обработке на молочных предприятиях. Согласно литературным данным, известно, что термообработка приводит к значительному изменению его качества, и, следовательно, антиоксидантной активности [3].

Поэтому встает вопрос о контроле качества молока после его термообработки.

На сегодняшний день существует достаточно много физико-химических методов для определения качественных показателей молока. Но известные методы анализа сложны и не всегда доступны при текущем производственном контроле, а также в массовых исследованиях, и, что самое главное, они определяют лишь индивидуальные показатели, не дающие общей картины [4].

Альтернативным методом комплексного исследования качества молока после его термообработки является биотестирование. В основе биотестов лежит оценка безопасности или иных свойств исследуемого объекта на организмах-моделях, и на основании полученных результатов осуществляется прогноз реакции организма человека и/или животных на этот объект [5]. Биотестирование позволяет определить качественные показатели исследуемого объекта, а также за короткий промежуток времени оценить интегральную токсичность содержащихся в нем вредных веществ. Следовательно, главное преимущество биологических объектов перед традиционными методами тестирования: они позволяют оценить воздействие вещества на уровне всего организма.

Практическое использование биологических тестов часто ставит перед исследователями задачу целенаправленного искусственного изменения порога реагирования тест-системы на внешние воздействия [6], с целью регулирования ее чувствительности [7]. Для этого могут быть использованы так называемые физиологические (функциональные) нагрузки (рисунок 1). Их роль заключается в искусственном изменении состояния тест-системы путем того или иного стрессового воздействия. Механизмы подобных воздействий на живую клетку могут быть достаточно разнообразными. В одних случаях клетка вынуждена компенсировать влияние нагрузки путем перестройки метаболизма и расходовать на это часть своих внутренних ресурсов. При этом снижаются возможности клетки для ответной реакции на исследуемое вещество и, соответственно, увеличивается чувствительность к нему. Другие факторы, изменяя транспортные возможности поверхностных структур клетки, облегчают проникновение исследованных веществ в цитоплазму, тем самым усиливая их влияние на клетку [8].

Кроме того, известно, что именно в условиях стресса сбалансированность питания антиоксидантами отвечает за «стабильную работу» организма, способствует стимуляции его защитной системы, направленной на поддержание в пределах нормы реакций организма [9].

Исследовательская активность в области применения биологических методов для оценки качества продукции в пищевой отрасли в основном связана с кормопроизводством, где они применяются для оценки токсичности и/или биологической ценности кормовых продуктов [10–14]. В литературе опубликовано мало исследований, посвященных применению методов биотестирования для контроля качества продуктов питания [15–19] и особенно – молока и молочных продуктов [20–24], хотя эти исследования показали успешные результаты. Однако пока еще не было исследований определения методами биотестирования качества молока после его тепловой обработки.

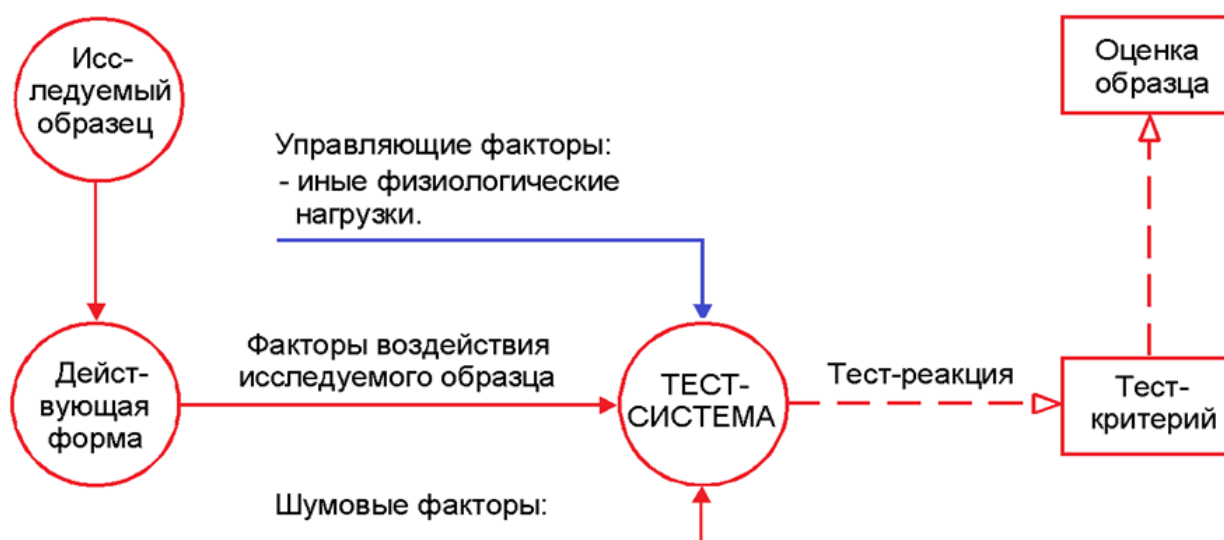


Рис. 1. Принципиальная схема биотестирования.

Fig. 1. Conceptual flow chart of biotesting approach.

В связи с этим целью настоящих исследований являлась оценка влияния молока, обработанного при наиболее широко распространенных промышленных режимах пастеризации, на стрессоустойчивость инфузорий *Paramecium caudatum*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Подготовка проб молока. Объектом исследования в работе служили пробы коровьего молока из частных хозяйств. Пробы брали от разных доноров, соответственно, молоко отличалось по жирности, содержанию белка и титруемой кислотности. Эти показатели для всех проб соответствовали нормам для сырого коровьего молока. Данные по ним не приводятся в работе, так как не было выявлено закономерностей по влиянию жирности, общего содержания белка и титруемой кислотности на стрессоустойчивость инфузорий. Нагрев молока осуществлялся до температуры пастеризации с соответствующей выдержкой таким образом, чтобы максимально возможно сократить время предварительного нагрева молока. Для этого работа проводилась с небольшими объемами молока (10 мл). Пробы молочного сырья погружали в водяную баню, нагретую до 100°C, и интенсивно перемешивали до достижения необходимой температуры термообработки (65°C, 76°C, 90°C, 95°C), после чего нагрев пробы молока продолжали на водяной бане с соответствующими значениями температуры воды (67–68°C, 78–80°C), за исключением проб, нагреваемых выше 90°C. Для каждой пробы молока время выдержки было различным: 65°C – 30 мин, 76°C и 95°C – 5 мин, 90°C – 20 с.

Подготовка культуры *Paramecium caudatum* к биотестированию [25]. В работе использовали 3-х суточную культуру инфузорий *Paramecium caudatum*. Инфузории культивировали в пробирках при комнатной температуре на среде Лозин-Лозинского, которая имеет следующий состав (г/л):

1. NaCl – 0,1

2. KCL – 0,01
3. CaCL₂ – 0,01
4. MgCL₂ – 0,01
5. NaHCO₃ – 0,02
6. Вода дистиллированная – 1000 мл.

Среду предварительно автоклавировали в течение 30 мин при давлении 1,5 атм. Субстратом для инфузорий во время культивирования служила суспензия хлебопекарных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, приготовленная на среде Лозин-Лозинского: брали 15–20 гранул сухих дрожжей на 10 см³ среды. Подкормку инфузорий осуществляли ежедневно по 1–2 капли дрожжевой суспензии на пробирку (10–12 мл). Показателем хорошего состояния культуры являлось образование парамециями «кольца» ниже мениска пробирки.

Определение стрессоустойчивости *Paramecium caudatum* [26].

В качестве стрессора был использован пероксид водорода, который является индикатором, повреждающим преимущественно липидную часть мембраны [26, 27]. В экспериментах 3-х суточную культуру инфузорий пересекали в пробирки со средой Лозин-Лозинского в количестве 20–40 особей (600–800 мкл). В пробирку каждый день вносили по 500 мкл исследуемого питательного раствора и культивировали инфузории в течение 3-х суток. Стрессоустойчивость инфузорий к 1,5%-ному раствору пероксида водорода проверяли на 3 (третьи) сутки (концентрацию стрессора подбирали опытным путем таким образом, чтобы время обездвиживания инфузорий составляло 1–2 минуты).

Приготовление питательных растворов для биотестирования. В качестве контроля использовали только дрожжевой субстрат: в бюксе смешивали 20 мкл дрожжевой суспензии с 3 мл среды Лозин-Лозинского. В остальные бюксы дополнительно вносили по 10 мкл исследуемого молока. Бюксы с питательными растворами хранили в холодильнике.

Для исследования стрессоустойчивости инфузорий использовали микроаквариум с лунками, который помещали на предметный столик микроскопа. Наблюдение за парамециями проводили с использованием микроскопа «МБС-9» при увеличении $\times 14$. В лунку с помощью капиллярной пипетки помещали по 4–5 особей. При помещении тест-объекта количество культуральной жидкости в лунке не должно превышать 0,02 см.

В лунку с инфузориями при помощи дозатора со съемным стерильным наконечником наливали по 300 мкл раствора стрессора соответствующей концентрации и засекали время полного обездвиживания парамеций. Эксперимент проводили в 3-х кратной повторности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментов по влиянию добавления нативного молока на устойчивость инфузорий к повреждающему воздействию пероксида водорода представлены на рисунке 2.

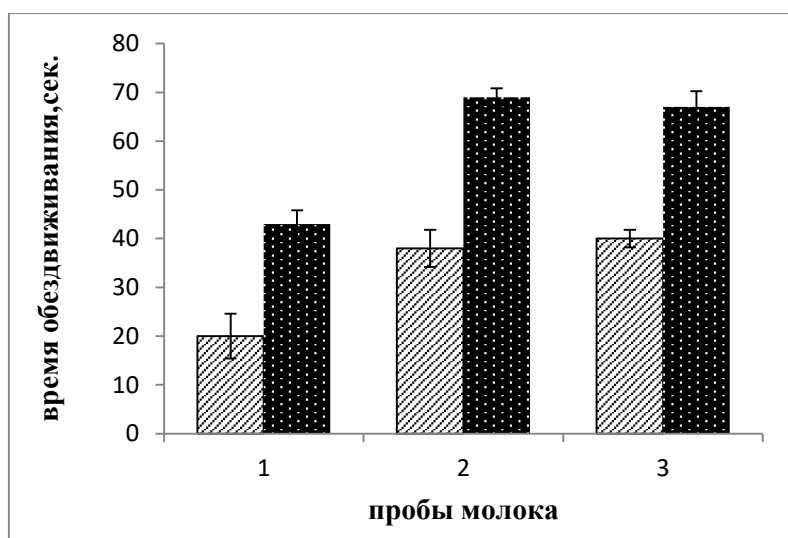


Рис. 2. Влияние добавления молока в среду культивирования на стрессоустойчивость *Paramecium caudatum* к повреждающему воздействию 1,5%-ного раствора пероксида водорода. Столбики серого цвета – среда культивирования без добавок (контроль), черные – с добавлением нативного молока; 1, 2, 3 – пробы молока от разных доноров.

Fig. 2. Effect of milk addition into cultivation medium on stress resistance of *Paramecium caudatum* to damaging effect of 1.5% hydrogen peroxide solution. Gray bars – culture medium without milk addition (control), black bars – with native milk addition; 1, 2, 3 – milk samples from different donors.

Как видно из рисунка, во всех экспериментах после добавления цельного необработанного коровьего молока в среду культивирования время обездвижения инфузорий под воздействием стрессора возросло, т.е. введение нативного молока привело к повышению стрессоустойчивости инфузорий к повреждающему воздействию пероксида водорода. Вероятно, это объясняется тем, что в молоке присутствуют антиоксиданты с различным механизмом действия, которые представлены: про-, жир- и водорастворимыми витаминами, ферментными системами, белками, аминокислотами, пептидами и различными низкомолекулярными соединениями [28, 29].

Что касается антиоксидантного эффекта коровьего молока, обработанного при различных режимах тепловой обработки, результаты исследования представлены на рисунке 3.

Результаты, приведенные на рисунке 3, показывают, что наибольшей стрессоустойчивостью отличаются инфузории, культивированные с добавлением в среду Лозин-Лозинского коровьего молока, обработанного при режимах 76°C 5 мин и при 90°C 20 с. Это, по-видимому, обусловлено максимальной сохранностью в молоке при данных режимах тепловой обработки витаминов и выходом в плазму молока низкомолекулярных пептидов, аминокислот, которые играют роль дополнительных факторов роста, проявляющих антиоксидантные свойства [3]. Данные вещества могут препятствовать протеканию окислительных повреждающих процессов в клетке, тем самым увеличивая время выживания инфузорий.

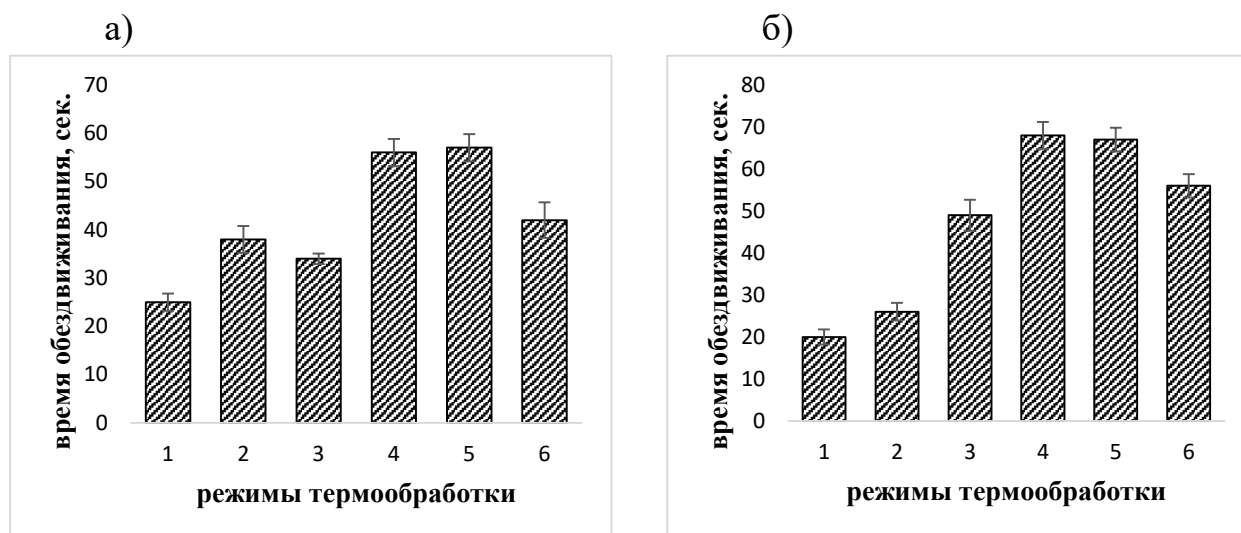


Рис. 3. Зависимость стрессоустойчивости к пероксиду водорода инфузорий *Paramecium caudatum* от режима предварительной термообработки введенного молока: 1 – контрольная проба без молока; 2 – добавление молока без термообработки; 3–6 – добавление молока, обработанного при 65°C 30 мин (3); 76°C 5 мин (4); 90°C 20 с (5); 95°C 5 мин (6); а, б – пробы молока от разных доноров.

Fig. 3. Dependence of hydrogen peroxide stress resistance of ciliates *Paramecium caudatum* on the preliminary heat treatment mode of added milk: 1 — control sample without milk; 2 – addition of milk without heat treatment; 3–6 – addition of milk treated at 65°C for 30 min (3); 76°C 5 min (4); 90°C 20 s (5); 95°C 5 min (6); a, b – milk samples from different donors.

Инкубация инфузорий в среде с добавлением коровьего молока, обработанного при более жестких режимах термообработки (65°C – 30 мин и 95°C – 5 мин), приводила к снижению их устойчивости к воздействию перекиси водорода в результате как более сильного разрушения антиоксидантов натурального молока, так и частичного разрушения биологически активных компонентов молочного сырья, выделяющихся в его плазму при пастеризации по сравнению с двумя вышеописанными режимами [28].

ВЫВОДЫ

1. Показано увеличение стрессоустойчивости инфузорий *Paramecium caudatum* к повреждающему действию пероксида водорода при добавлении к питательной смеси нативного коровьего молока по сравнению с контролем.

2. Установлена высокая чувствительность выбранного тест-объекта к изменению антиоксидантных свойств молока, обработанного при различных режимах пастеризации.

3. Выявлены режимы термообработки, обеспечивающие наибольшую сохранность антиоксидантной активности коровьего молока и соответственно более высокую стрессоустойчивость инфузорий *Paramecium caudatum*: 76°C 5 мин и 90°C 20 с.

Список литературы:

1. Гаврилова Б.Г., Абросимова С.В., Макарушин А.А. (2006). Перспективы развития молочных продуктов. *Переработка молока*, 10, 18 - 19.

2. Горбатова К.К. (2004). *Химия и физика молока. Учебник для вузов*. СПб.: ГИОРД.
3. Балакирева Ю.В. Ахмадуллина Ф.Ю., Лапин А.А., Лопухов Л.В. (2010). Влияние промышленных режимов пастеризации на интегральную антиоксидантную и витаминную активности коровьего молока. *Бутлеровские сообщения*, 19(2), 19 - 25.
4. Черемных Е.Г. Тихомирова Н.А., Игнатъева О.Н. (2009). Биотестирование пищевых добавок и молочных продуктов. *Молочная промышленность*, 10, 36 - 38.
5. Елисеева Л.Г., Юрина О.В, Улаханова Д.П., Алексеева А.А. (2014). *Анализ методов биотестирования общей токсичности и безопасности пищевых продуктов*. М.: Палеотип.
6. Виноходов Д.О. (2007). *Научные основы биотестирования с использованием инфузорий. Автореф. дисс. доктора биол. наук*. СПб.: СПГТУ.
7. Виноходов Д.О., Пожаров А.В. (2006). Методологические особенности токсикологических тестов с инфузориями. *Изв. СПбГЭТУ «ЛЭТИ». Сер. Биотехнические системы в медицине и экологии*, 14, 60 - 67.
8. Виноходов Д.О., Виноходов В.О., Гинак А.И. (1998). Биотестирование как метод научного исследования. *Тезисы докладов Международной заочной научно-практической конференции «Инфузории в биотестировании»*. СПб., с. 40 - 43.
9. Павловская Ж.И., Михайлова Р.В., Мороз И.В., Еремин А.Н. (2003). Устойчивость *Penicillium roseum* F-648 к действию пероксида водорода в условиях кратковременного и длительного окислительного стресса. *Прикладная биохимия и микробиология*, 39(1), 31 - 36.
10. Долгов В.А. (1992). *Методические аспекты и практическое применение ускоренной биологической оценки кормов, продуктов животноводства и других объектов ветеринарно-санитарного и экологического контроля*. Автореф. дис. докт. ветеринар. наук. М.: ВНИИВСТЭ.
11. Долгов В.А., Лавина С.А., Арно Т.С., Семенова Е.А., Козак С.С., Серегин И.Г., Михалева Л.П. (2014). Применение инфузорий тетрахимена пириформис для оценки качества и безопасности продуктов птицеводства. *Птица и птицепродукты*, 6, 50 - 52.
12. Лавина С.А. (2002). *Биотесты на основе ферментных систем для оценки токсического действия ксенобиотиков на объекты ветеринарно-санитарного и экологического контроля*. Автореф. дис. докт. биол. наук. М.: ВНИИВСТЭ.
13. Шадрин И.А (2008). Токсикологический анализ некоторых кормов по реакции выживаемости инфузорий *Paramecium caudatum*. *Вестник КрасГАУ*, 2, 128 - 134.
14. Демиденко Г.А., Шуранов В.В. (2015). Оценка токсичности кормов с использованием инфузорий *Paramecium caudatum* ciliates. *Вестник КрасГАУ*, 10, 5 - 11.
15. Omarov R., Agarkov A., Rastovarov E., Shlykov S. (2017). Modern methods for food safety. *Proceedings of 16th International Scientific Conference "Engineering for Rural Development"*, Russia, Jelgava, 2017, pp. 960 - 963.
16. Truhachev V., Sycheva O., Shlykov S., Hodusov A., Zakotin V. (2019). Determination of the number of somatic cells in milk by biotesting method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 403, 012056. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/403/1/012056>
17. Samoilov A.V., Suraeva N.M., Zaitseva M.V., Kurbanova M.N., Stolbova V.V. (2019). Comparative assessment of artificial sweeteners toxicity via express biotest. *Health Risk Analysis*, 2, 83 - 90. DOI: [10.21668/health.risk/2019.2.09.eng](https://doi.org/10.21668/health.risk/2019.2.09.eng)
18. Kurnosova K., KrusirG., Zaderey O., Rusanova O., Mardar M. (2020). Biotesting in assessing the safety of grain products. *Grain Products and Mixed Fodder's*, 20, 20 - 27. <https://doi.org/10.15673/gpmf.v20i3.1845>
19. Нитяга И.М., Уша Б.В., Морозова Е.Н., Викулова Л.В. (2017). Контроль безопасности сырья и пищевых продуктов с помощью методики определения острой токсичности на инфузориях. *Пищевая промышленность*, 1, 48 - 49.

20. Лазько М.В., Дулина А.С., Рубальский О.В. (2014). Биотестирование коровьего молока для экологически безопасных продуктов питания. *Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК - продукты здорового питания*, 1, 75 - 78.
21. Сычева О.В., Веселова М.В. (2007). Определение уровня токсичности молока с ингибиторами методом биотестирования. *Достижения науки и техники АПК*, 6, 54 - 55.
22. Веселова М.В., Сычева О.В., Стародубцева Г.П. (2006). Исследование токсичности аномального молока методом биотестирования. *Молочная промышленность*, 7, 45 - 46.
23. Зиганшина Г.А., Баданова Е.Г., Гарипова Э.Р., Азизова А.И., Щербакова Ю.В., Ахмадуллина Ф.Ю. (2015). Метод биотестирования - альтернативный метод оценки изменения качества молока при его термообработке. *Бутлеровские сообщения*, 3, 156 - 159.
24. Щербакова Ю.В., Азизова А.И., Егорова Е.А., Галиакбарова Л.М., Гарипова Э.Р., Ахмадуллина Ф.Ю. (2016). Биомониторинг качества молочного сырья казеинового типа. *Вестник Технологического университета*, 7, 154 - 157.
25. Методические рекомендации по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. Под ред. Филенко О.Ф., Соколовой С.А. М.: ВНИРО, 1998.
26. Огай М.А., Степанова Э.Ф., Холодов Д.Б., Николаевский В.А. (2011). Антиоксидантный и мембраностабилизирующий эффект таурина. *Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация*, 1, 186 - 191.
27. Карбышев М.С., Абдуллаев Ш.П. (2018). *Биохимия оксидативного стресса*. Учебно-методическое пособие. М.: РНИМУ им. Н.Н. Пирогова.
28. Балакирева Ю.В., Ахмадуллина Ф.Ю., Лапин А.А. (2009). Изучение антиоксидантной емкости коровьего и козьего молока. *Вестник КГТУ*, 1, 56 - 59.
29. Половинкина Е.О., Синицына Ю.В. (2010). *Окислительный стресс и особенности воздействия слабых стрессоров физической природы на перекисный гомеостаз растительной клетки*. Учебно-методическое пособие. Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет.

References:

1. Gavrilov, B.G. Abrosimov, S.V., & Makrushin, A.A. (2006). Prospects of development of dairy products. *Pererabotka moloka = Milk processing*, 10, 18 – 19 (in Russ.).
2. Gorbatoва, K.K. (2004). Chemistry and physics of milk. High School Manual. SPb.: GIORД (in Russ.).
3. Balakireva, Yu.V., Akhmadullina, F.Yu., Lapin, A.A., & Lopukhov, L.V. (2010). Influence of industrial pasteurization regimes on the integral antioxidant and vitamin activity of cow's milk. *Butlerovskiye soobshcheniya = Butlerov Communications*, 19(2), 19 - 25 (in Russ.).
4. Cheremnykh, E.G., Tikhomirova, N.A., & Ignatieva, O.N. (2009). Biotesting of food additives and dairy products. *Molochnaya promyshlennost' = Dairy industry*, 10, 36 - 38 (in Russ.).
5. Eliseeva, L.G., Yurina, O.V., Ulakhanova, D.P., & Alekseeva, A.A. (2014). *Analysis of biotesting methods for general toxicity and safety of food products*. M.: Paleotip (in Russ.).
6. Vinokhodov, D.O. (2007). *Scientific bases of biotesting using infusoria*. Synopsis of Thesis of Doctoral Dissertation. St. Petersburg: St. Peresburg State Technological University (in Russ.).
7. Vinokhodov, D.O., & Pozharov A.V. (2006). Methodological features of toxicological tests with ciliates. *Izv. SPbGETU LETI = Proceedings of Saint Petersburg Electrotechnical University Journal*, 14, 60 - 67 (in Russ.).
8. Vinokhodov, D.O., Vinokhodov, V.O., & Ginak, A.I. (1998). Biotesting as a method of scientific research. *Proceedings of International external scientific and practical conference "Infusoria in biotesting"*. SPb., pp. 40 - 43 (in Russ.).
9. Pavlovskaya, Zh.I., Mikhailova, R.V., Moroz, I.V., & Eremin, A.N. (2003). Resistance of *Penicillium piceum* F-648 to the action of hydrogen peroxide under conditions of short-term

- and prolonged oxidative stress. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 39(1), 24 - 29.
<https://doi.org/10.1023/A:1021737724373>
10. Dolgov, V.A. (1992). *Methodological aspects and practical application of accelerated biological assessment of feed, animal products and other objects of veterinary, sanitary and environmental control*. Synopsis of Thesis of Doctoral Dissertation. M.: VNIIVSGE (in Russ.).
 11. Dolgov, V.A., Lavina, S.A., Arno, T.S., Semenova, E.A., Kozak, S.S., Seregin, I.G., & Mikhaleva, L.P. (2014). Use of ciliates *Tetrachimena piriformis* for assessing quality and safety of poultry products. *Ptitsa i Ptitseprodukty = Poultry and Poultry Processing*, 6, 50 - 52 (in Russ.).
 12. Lavina, S.A. (2002). *Biotests based on enzyme systems to assess toxic effect of xenobiotics on objects of veterinary, sanitary and environmental control*. Synopsis of Thesis of Doctoral Dissertation. M.: VNIIVSGE (in Russ.).
 13. Shadrin, I.A. (2008). Toxicological analysis of some feeds by reaction of survival rate of ciliates *Paramecium caudatum*. *Vestnik KrasGAU = Bulletin of KrasGAU*, 2, 128 - 134 (in Russ.).
 14. Demidenko, G.A., & Shuranov, V.V. (2015). The assessment of the forage toxicity using the *Paramecium caudatum* ciliates. *Vestnik KrasGAU = Bulletin of KrasGAU*, 10, 5- 11 (in Russ.).
 15. Omarov, R., Agarkov, A., Rastovarov, E., & Shlykov, S. (2017) Modern methods for food safety. *Proceedings of 16th International Scientific Conference "Engineering for Rural Development"*, Russia, Jelgava, 2017, pp. 960 - 963.
 16. Truhachev, V., Sycheva, O., Shlykov, S., Hodusov, A., & Zakotin, V. (2019). Determination of the number of somatic cells in milk by biotesting method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 403, 012056. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/403/1/012056>
 17. Samoilov, A.V., Suraeva, N.M., Zaitseva, M.V., Kurbanova, M.N., & Stolbova, V.V. (2019). Comparative assessment of artificial sweeteners toxicity via express biotest. *Health Risk Analysis*, 2, 83 - 90. DOI: [10.21668/health.risk/2019.2.09.eng](https://doi.org/10.21668/health.risk/2019.2.09.eng)
 18. Kurnosova, K., Krusir, G., Zaderey, O., Rusanova, O., & Mardar, M. (2020). Biotesting in assessing the safety of grain products. *Grain Products and Mixed Fodder's*, 20, 20 - 27. <https://doi.org/10.15673/gpmf.v20i3.1845>
 19. Nityaga, I.M., Usha, B.V., Morozova, E.N., & Vikulova, L.V. (2017). Control of the safety of raw materials and food products using the method for determining acute toxicity on ciliates. *Pishchevaya promyshlennost' = Food industry*, 1, 48 - 49 (in Russ.).
 20. Lazko, M.V., Dulina, A.S., & Rubalsky, O.V. (2014). Biotesting of cow's milk for environmentally friendly food. *Tekhnologii pishch. pererab. prom. APK – produkty zdorovogo pitaniya = Technologies of the food and processing industry of the AIC - healthy food products*, 1, 75 - 78 (in Russ.).
 21. Sycheva, O.V., & Veselova, M.V. (2007). Determination of the toxicity level of milk with inhibitors by the biotesting method. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK = Achievements of science and technology of AIC*, 6, 54 - 55 (in Russ.).
 22. Veselova, M.V., Sycheva, O.V., & Starodubtseva, G.P. (2006). Study of toxicity of abnormal milk by biotesting method. *Molochnaya promyshlennost' = Dairy industry*, 7, 45 - 46 (in Russ.).
 23. Ziganshina, G.A., Badanova, E.G., Garipova, E.R., Azizova, A.I., Shcherbakova, Yu.V., & Akhmadullina, F.Yu. (2015). The biotesting method is an alternative method for assessing the changes in milk quality during heat treatment. *Butlerovskiye soobshcheniya = Butlerov Communications*, 3, 156 – 159 (in Russ.).
 24. Shcherbakova, Yu.V., Azizova, A.I., Egorova, E.A., Galiakbarova, L.M., Garipova, E.R., & Akhmadullina, F.Yu. (2016). Biomonitoring of the quality of casein-type dairy raw materials. *Vestnik Tekhnol. Univ. = Bulletin of the Technological University*, 7, 154 - 157 (in Russ.).
 25. Methodological recommendations for establishing environmental and fisheries standards (MPC, SRLI) of pollutants for water of water bodies of fisheries significance. Ed. by O.F. Filenko, S.A. Sokolova. M.: VNIRO, 1998 (in Russ.).

26. Ogaj, M.A., Stepanova, E.F., Holodov, D.B. & Nikolaevskii V.A. (2011). Антиоксидантный и мембраностабилизирующий эффект таурина. *Vestnik VGU. Ser. Khimiya, Biologiya, Farmatsiya = Bulletin of Voronezh State University. Ser. Chemistry, Biology, Farmacy*, 1, 186 - 191 (in Russ.).
27. Karbyshev, M.S., & Abdullaev, Sh.P. (2018). *Biochemistry of oxidative stress*. Manual. M.: RNIMU im. Pirogova (in Russ.).
28. Balakireva, Yu.V, Akhmadullina, F.Yu., & Lapin, A.A. (2009). Study of antioxidant capacity of cow and goat milk. *Vestnik Kazanskogo Tekhnologicheskogo Universiteta = Bulletin of Kazan Technological University*, 1, 56 - 59 (in Russ.).
29. Polovinkina, E.O., & Sinitsyna, Yu.V. (2010). *Oxidative stress and impact of weak stressors of physical nature on peroxide homeostasis of plant cells*. Manual. Nizhny Novgorod: Nizhny Novgorod State University (in Russ.).