Оригинальная статья / Original article
УДК 543.421:424:664.788
DOI: https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-678-690

Инфракрасная Фурье-спектроскопия в сравнительном исследовании животных и растительных белков

© А.П. Нечипоренко*, И.Э. Миневич, С.М. Орехова*, В.Е. Ситникова*, Д.А. Громова*, М.В. Успенская***

*Национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация
******Федеральный научный центр лубяных культур, г. Тверь, Российская Федерация

Резюме: *Методом инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения проведено сравнительное исследование белков разной категории (саркоплпзматических, миофибриллярных, стромы) мышечной ткани свинины; глобулярных белков, полученных из промышленного жмыха и измельченных семян льна масличного, а также протеин-полисахаридных комплексов, извлеченных из обрушенной семенной оболочки и цельных семян. Выделение белковых компонентов проводили из водно-солевых экстрактов осаждением трехкратным избытком 96%-го этанола, 5%-й трихлоруксусной кислотой и ИЭТ-осаждением при pH = 4,2. Показано, что использование разных анатомических частей (обрушенные ядро и семенная оболочка) как цельных, измельченных форм, так и жмыха семян льна масличного при варьировании условий предварительной обработки, экстрагирования и выделения позволяет получать комплекс биологически активных протеинсодержащих продуктов, используемых в пищевой промышленности, медицине, фармакопее, косметологии – белковые концентраты, пептид-полисахариды, белок-липид-полисахаридные комплексы с варьируемым составом и соотношением компонентов. Сравнительное исследование кинетики воздушной сушки при 20 ºС сырых растительных и животных глобулярных белков позволило отметить идентичность в экстремальном характере изменения спектрального образа кривых светопоглошения и интенсивности основных характеристических полос по мере удаления влаги. Температурный фактор, оказывая влияние на общий вид спектра, приводит к деформации полосы Амид-I, несущей информацию о структуре белка. Вклад в деформационные изменения может вносить не только возможность дифференциации глобулярных белков (альбуминов и глобулинов), но и упаковка их полипептидных цепей при реконструкции или формировании новой вторичной структуры, разрушенной в результате различных механических и химических вмешательств. Комплекс полученных данных указывает, что повышенная температура оказывает существенное влияние на структурно-конформационные преобразования как белковых концентратов, так и белок-полисахаридных комплексов независимо от их природы.*

Ключевые слова*: растительные и животные белки, протеинсодержащие продукты, инфракрасная спектроскопия отражения*

Для цитирования: Нечипоренко А.П., Миневич И.Э., Орехова С.М., Ситникова В.Е., Громова Д.А., Успенская М.В. Инфракрасная Фурье-спектроскопия в сравнительном исследовании животных и растительных белков. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология.* 2020. Т. 10. N 4. С. 678–690. https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-678-690

Fourier-transform infrared spectroscopy in a comparative study of animal and plant proteins

Alla P. Nechiporenko*, Irina E. Minevich, Svetlana M. Orehova*, Vera E. Sitnikova*, Diana A. Gromova*, Mayya V. Uspenskaya***

*National Research University of Information Technology, Mechanics and Optic, St. Petersburg, Russian Federation
** Federal Scientific Center for Fiber Crops, Tver, Russian Federation

Abstract: *The method of infrared attenuated total reflection spectroscopy was used to compare proteins (sarcoplasmic, myofibrillar, stroma) contained in the pork muscle tissue, globular proteins obtained from industrially crushed flax seeds, as well as protein-polysaccharide complexes extracted from husked seed coats and whole seeds. Protein components were isolated from saline solutions by precipitation with a threefold excess of 96% ethanol and 5% trichloroacetic acid, as well as by isoelectric precipitation at pH = 4.2. It is*

shown that the use of different anatomical parts (core and seed coat), including crushed or whole forms and flax seed meal, under varying conditions of pre-treatment, extraction and isolation allow biologically active protein-containing products to be obtained. Such products – protein concentrates, peptide polysaccharides and protein-lipid-polysaccharide complexes with a variable composition and ratio of components – are valuable raw materials for the food industry, medicine, pharmacopoeia and cosmetology. A comparative study of the kinetics of air drying of crude plant and animal globular proteins at 20°C showed these proteins to be similar in terms of extreme changes in the spectra of light absorption curves and the intensity of the main characteristic bands upon moisture removal. Temperature changes, affecting the general appearance of light absorption spectra, lead to deformation of the Amide-I band, which carries information about the protein structure. Deformational changes may be promoted not only by differentiation of globular proteins (albumins and globulins), but also by packing of their polypeptide chains during reconstruction or formation of a new secondary structure destroyed as a result of various mechanical and chemical interventions. According to the obtained data, elevated temperatures have a significant effect on the structural transformations of both protein concentrates and protein-polysaccharide complexes, regardless of their nature.

Keywords: *plant and animal proteins, protein-containing products, infrared reflection spectroscopy*

For citation: Nechiporenko AP, Minevich IE, Orekhova SM, Sitnikova VE, Gromova DA, Uspenskaya MV. Fourier-transform infrared spectroscopy in a comparative study of animal and plant proteins. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology.* 2020;10(4): 678–690. (In Russian) https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-678-690

ВВЕДЕНИЕ

Недостаточное содержание белка в продуктах питания – проблема мирового масштаба, давно назревавшая и ставшая сегодня очевидной [1, 2]. Потребности пищевой индустрии в производстве продукции не только обогащенной белками, но и с широким разнообразием состава по белковым и аминокислотным компонентам, функционально-терапевтическим и технологическим свойствам довольно велики [3, 4]. Во многих лабораториях мира решение этой проблемы рассматривается и исследуется в нескольких направлениях: введение в состав мясных продуктов добавок мяса диких животных и птицы (буйвола, зубра, оленя, лося, кабана, медведя, фазана, куропатки и др.) [5, 6], нетрадиционного мясного сырья (мясо верблюда, яка, кенгуру и др.) [7, 8], для других категорий продуктов питания – белковых ингредиентов животного и растительного происхождения [9]. По мнению ряда ведущих в данной отрасли российских и зарубежных ученых, комплексное использование белков животного происхождения из мяса сельскохозяйственных, диких животных и нетрадиционного сырья при производстве потребительских товаров является одним из альтернативных путей решения проблемы дефицита белка в питании населения [3, 5, 7].

С каждым годом увеличивается потребность в белках и аминокислотах в медицине, фармакопее, ветеринарии, животноводстве. Белки и продукты их деградации (пептиды, аминокислоты) широко применяются в клинической практике в качестве и в составе медицинских препаратов, лечебных пищевых добавок, для питания ослабленных больных, при кровопотерях, нарушении мозгового кровообращения, умственной отсталости, потери памяти и др. К белковым препаратам относятся и всевозможные лечебные сыворотки. Наряду с синтетическими и нефтяными белками во многих странах интенсивно развиваются крупнотоннажные технологии получения биомассы из культур некоторых микроорганизмов, которые находят применение в производстве кормовых добавок для животноводства, биоинсектицидов, вакцинных штаммов микроорганизмов и вирусов, заквасок, дрожжей[1]. Оказалось, что микробный белок богат незаменимыми аминокислотами (лизин, треонин, триптофан, метионин, изолейцин, фенилаланин, тирозин). Белки микробного происхождения в настоящее время применяются вместо сои и рыбной муки. Однако существенным недостатком этих технологий является наличие в конечном продукте нежелательных примесей микробных клеток.

Остро стоящая проблема нехватки пищевого белка стимулирует работу генетиков и селекционеров и широкомасштабное исследование сырья растительного происхождения, богатого протеинами, интерес к в последнее десятилетие резко возрос [10–12]. Белки растительного происхождения получают в основном из семян злаков и масличных культур, плодов бобовых и ореховых растений. В большинстве случаев белки из растительных источников являются преимущественно альбуминами и глобулинами и, в отличие от животных, характеризуются относительным дефицитом некоторых незаменимых аминокислот [13]. Так, например, кукуруза и пшеница бедны триптофаном и лизином, а некоторые бобовые – метионином. В результате каждый из этих продуктов сам по себе имеет низкую питательную ценность, однако, в совокупности они дают белковую смесь, эквивалентную по питательности белкам молока, обеспечивая полноценный набор необходимых аминокислот. Такие

[1]Воробьева А.И. Промышленная микробиология: учеб. пособие. М.: Изд-во МГУ. 1989. 294 с.

белки рассматриваются как комплементарные.

Одним из перспективных растительных источников полноценного белка, полипептидов и их полисахаридных комплексов, вызывающих научный и практический интерес, являются семена льна и продукты их переработки [14–16]. Согласно литературным данным, по аминокислотному составу белки льна аналогичны белкам сои, которые рассматриваются как одни из самых питательных растительных белков, и по показателю аминокислотного скора не уступают белкам молока. Семена льна содержат полный набор наиболее часто встречающихся аминокислот и характеризуются высоким содержанием таких незаменимых аминокислот, как валин, изолейцин. фенилаланин, лизин, лейцин, при низком содержании метионина и треонина. Различия в аминокислотном составе, указывая на комплементарность, дают возможность перспективного комбинирования при купажировании белковых систем целевого назначения. Следует отметить перспективность применения в качестве источника белка льняного жмыха, содержание белка в котором (35–45%) в 1,5–2 раза превышает содержание белка в семенах. В семенах льна с увеличением содержания масла уменьшается содержание белка, а его состав может варьироваться в зависимости от генетики, условий выращивания, сбора и обработки.

Выделение белков как животного, так и растительного происхождения происходит в несколько этапов. Сначала белки из измельченного сырьевого материала, обезжиренного при помощи гексана, диэтилового или петролейного эфира, переводят в растворимое состояние, используя в качестве экстрагентов воду, водные растворы солей, буферные растворы и др. [17, 18]. Однако, поскольку в экстракт выходят и сопутствующие растворимые продукты, следующим этапом, чаще всего, является осаждение белка водоотнимающими средствами (этанол, ацетон), солевыми растворами (Na_2SO_4, $(NH_4)_2SO_4$) высокой концентрации, минеральными и органическими кислотами, осаждением в изоэлектрической точке (ИЭТ-осаждение) и др. Конечные свойства продуктов, образующихся в ходе многоэтапных технологических процессов, являются результатом разнообразных структурных деструкций, сшивок, реконструкций и сложных взаимодействий всех компонентов. На индивидуальность характера деструктивно-реконструктивных процессов и возможности при структурной агломерации существенное влияние оказывают такие технологические параметры, как температура, pH среды, продолжительность процесса. Поэтому выбор схемы конкретного технологического процесса зависит от вида сырья и назначения целевого продукта.

Цель настоящей работы состояла в сравнительном исследовании растительных белковых концентратов, протеин-полисахаридных комплексов (семена льна) и животных белков разных категорий мышечной ткани (свинина) с использованием метода инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (ИКС НПВО), широко используемого при исследовании биологических материалов [19–21].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектами исследования в данной работе являлись:

1. Фракционированные саркоплазматические, миофибриллярные белки и белки стромы, выделенные из измельченной (d = 2,5 мм) свежеохлажденной препарированной мышечной ткани свинины (длиннейшая мышца спины, белая порода, фермерское производство Новгородской области). Выделение белков разной категории, основанное на иерархической последовательности в их растворимости[2] [22], проводилось на холоде по схемам:

– саркоплазматические глобулярные белки (альбумины, глобулины) выделяли из мышечной ткани водной экстракцией в течение 4-х ч; гидромодуль = m(г)/V(мл) = 1/10;

– миофибриллярные сократительные белки актомиозинового комплекса (актин, миозин, тропомиозин) извлекали из мышечного волокна, оставшегося после удаления саркоплазматических веществ и отмытого до прозрачных вод, экстракцией в течение 2-х ч 10% раствором NaCl;

– фибриллярные соединительнотканые белки (коллаген, эластин) получали из отмытой до прозрачных вод стромы (соединительной ткани) обработкой 0,6 М раствором NaOH для удаления мукополисахаридов (углеводной компоненты стромы) с последующей отмывкой водой;

– водный и солевой экстракты использовались для осаждения саркоплазматических и миофибриллярных белков трехкратным избытком 96%-го этанола и 5%-й трихлоруксусной кислотой.

2. Протеин-полисахаридные комплексы и концентраты белков (альбумины, глобулины, глютелины) из масличных семян льна промышленного отечественной селекции (ГОСТ 10582-76) получали следующим образом:

– протеин-полисахаридные комплексы извлекали водной и водно-солевой экстракцией при 40–45 ºС и pH = 6,0 в течение 120 мин из цельных семян льна и обрушенной семенной оболочки;

– белковые концентраты получали из обрушенных ядер и промышленного льняного жмыха экстракцией 7%-м растром NaCl в соотношении

[2]Соколов А.А. Физико-химические и биохимические основы технологии мясопродуктов. М.: Пищевая промышленность, 1965. 511 с.

1:20 при pH реакционной смеси 8–9, которое устанавливалось введением небольшими порциями 10%-го раствора NaOH при температуре 35–40 ºС. Продолжительность процесса экстракции – 2 ч. После охлаждения до комнатной температуры экстракты центрифугировали и отделяли от льняного жмыха;

– из экстракта белок осаждали при pH = 4,2 (ИЭТ-осаждение) добавлением раствора HCL или трехкратным избытком 96%-го этанола. Для «созревания» белковой массы систему выдерживали 40 мин и центрифугировали.

Отделенный центрифугированием от надосадочного раствора растительный и животный сырой белок сушили при 45–50 ºС в термостате или 20 °С на предметном столике прибора до стабилизации ИК-спектра. Колебательные спектры образцов (32 скана) получали методом ИК-спектроскопии на Фурье-спектрометре Tensor 37 (Bruker, Германия) с алмазным НПВО-элементом и программным пакетом OPUS со стандартными градуировочными возможностями в диапазоне частот 4000–600 см$^{-1}$ в формате поглощения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования животных белков, представленные в литературе, были получены, как правило, на лиофилизованных препаратах. Современный способ сублимационной сушки при низких отрицательных температурах является наиболее бережной, мягкой технологией и широко используется в разных сферах пищевых производств. В фармацевтической и медицинской практике – при производстве лечебных, профилактических и диагностических препаратов (вакцин, антибиотиков), консервировании препаратов плазмы, сыворотки крови, кровезаменителей, при создании «банков» сухих препаратов и др. [23, 24].

Сопоставление общего вида кривых 1–3 (рис. 1) для лиофилизованных образцов альбуминов животного происхождения, несмотря на различие в интенсивности полос и относительное расположение, показывает их однотипный характер.

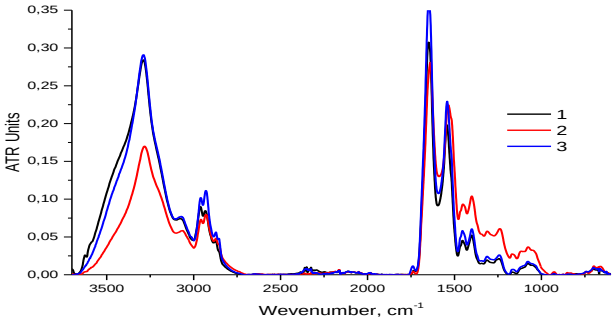


Рис. 1. ИК-спектры сухих препаратов альбуминов животного происхождения:
1 – человеческий; 2 – бычий; 3 – конский

Fig. 1. IR spectra of dry preparations of animal albumins:
1 – human; 2 – bovine; 3 – -horse

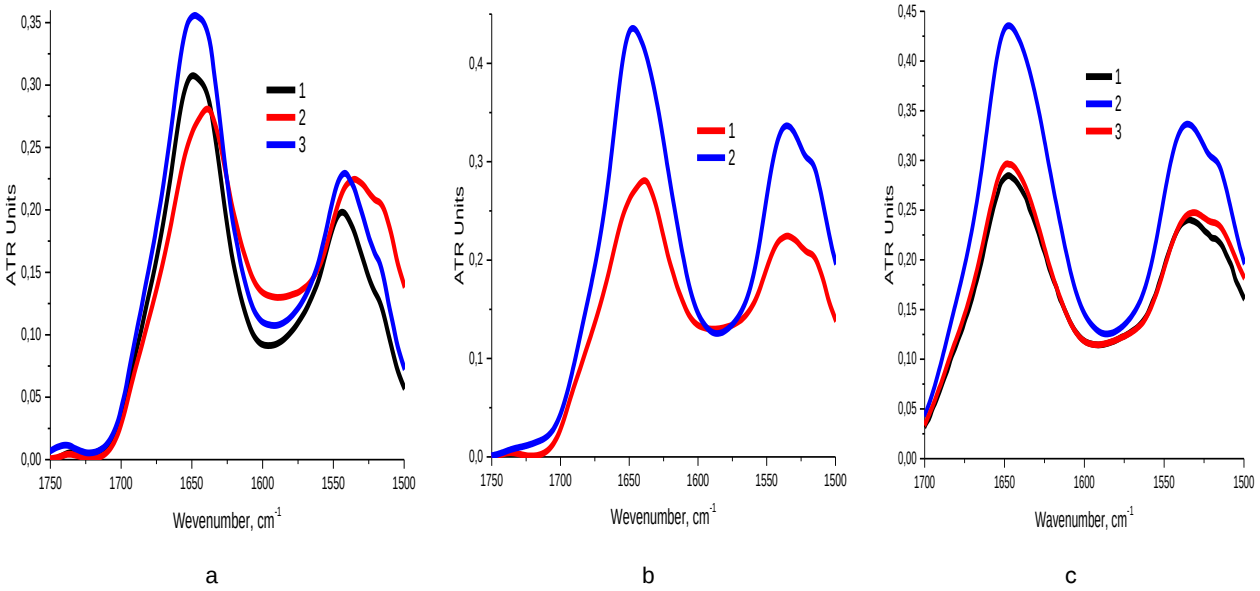


Рис. 2. Фрагменты ИК-спектров (1750–1500 см$^{-1}$): a – альбуминов животного происхождения; b – бычьей сыворотки (1) и альбумина (2); c – бычьей сыворотки: 1 – раствор, 2 – лиофилизованная, 3 – раствор 1 после замораживания; растворы 1 и 3, высушенные при 20 ºС

Fig. 2. Fragments of IR spectra (1750–1500 cm^{-1}): a) animal albumins: 1 – human, 2 – bovine, 3 – horse; b) bovine serum (1) and albumin (2); c) bovine serum: 1 – lyophilized drug, 2 – solution of the drug, 3 – solution after freezing (6 months), dried at 20 ºC

Однако фрагменты спектров протеиновой области говорят о заметной разнице в их составе и структуре в зависимости от природы животного организма, что проявляется в форме и смещении максимумов полос Амид-I и Амид-II (рис. 2, *a*). Анализ фрагментов ИК-спектров лиофилизованных образцов бычьей сыворотки крови, содержащей смесь глобулярных белков (альбуминов и глобулинов) и бычьего альбумина (рис. 2, *b*), позволяет отметить, что о присутствии в сыворотке крови гетерогенной фракции глобулинов, обладающих более высокой молекулярной массой (15000–500000 Да) [25], может говорить низкочастотный сдвиг максимума асимметричной полосы Амид-I (1640 см$^{-1}$) по отношению к положению максимума в спектре более низкомолекулярного (1500–70000 Да) альбумина (1655 см$^{-1}$).

Рис. 2, *c* иллюстрирует влияние на спектр лиофилизованной бычьей сыворотки (кривая 2) процесса ее растворения (кривая 1) и замораживания раствора при -18 ºС в течение 6 мес. (кривая 3). Оба раствора сыворотки подвергались сушке при 20 °С. Максимумы первых полос в спектрах высушенных растворов несколько смещены в высокочастотную область по сравнению со спектром исходного препарата. Процесс замораживания раствора вызывает небольшой батохромный сдвиг второй полосы и ее уширение. Отмеченные нюансы послужили основанием для проведения исследования нативных белков мышечной ткани в условиях воздушной сушки при 20 ºС.

Белки мышечной ткани свинины. Для выделения протеинов разной категории из животных тканей, используя различие в их растворимости, чаще всего применяют водную и водно-солевую экстракцию. На рис. 3 приведены спектры водного экстракта мышечной ткани свинины (выделение саркоплазматических белков – альбуминов и глобулинов) и солевого экстракта мышечного волокна (выделение миофибриллярных белков – актина и миозина), высушенных при 20 ºС. Их сопоставление показывает, что в солевом экстракте содержится существенно больше белковых компонентов, чем в водном. Это видно из соотношения интенсивности полос Амид-I (1680 см$^{-1}$) и Амид–II (1540 см$^{-1}$).

Присутствие интенсивной структурированной полосы в области 1030 см$^{-1}$ в спектре водного экстракта указывает на значительное содержание в нем мукополисахаридов, практически отсутствующих в спектре солевого экстракта. Кроме того, спектр водного экстракта отличается и заметным содержанием липидных компонентов, на которые указывает полоса 1748 см$^{-1}$ валентных колебаний С=О-групп жирных кислот в их составе. А наличие небольшого пика при 3008 см$^{-1}$, характерного для валентных колебаний СН-групп при двойной связи (СН=СН), говорит о том, что в составе липидных компонентов имеются ненасыщенные жирные кислоты. Интенсивные полосы в области 2953–2823 см$^{-1}$ обязаны проявлению валентных асимметричных и симметричных колебания CH_n-групп преимущественно липидных и полисахаридных структурных элементов. Высокочастотные полосы (3500–3050 см$^{-1}$) с максимумом, отвечающим колебаниям NH-групп пептидной связи, значительно уширены за счет прочно связанной, преимущественно с белками, воды, не полностью удаляемой в условиях воздушной сушки образцов.

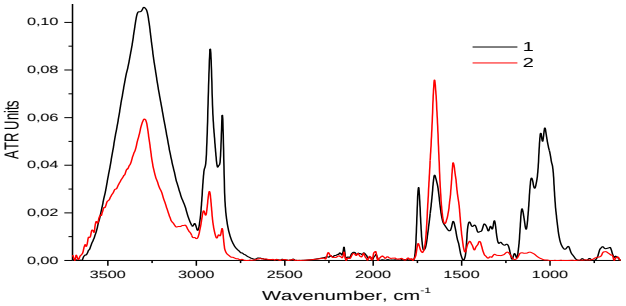


Рис. 3. ИК-спектры водного (1) экстракта мышечной ткани и солевого (2) экстракта мышечного волокна свинины, высушенных при 20 ºС

Fig. 3. IR spectra of aqueous (1) muscle tissue extract and salt (2) pork muscle fiber extract dried at 20 ºC

Для обратимого осаждения белков из жидких биологических тканей и экстрактов часто используют водоотнимающие средства (этанол, ацетон и др.). Понижая степень гидратации без изменения заряда белков, они способствуют их агломерации и осаждению. В результате обратимости процесса осаждения белки снова могут быть переведены в исходное состояние растворением их осадков в воде. Специфическим реагентом на белки является трихлоруксусная кислота (ТХУК). Нейтрализуя заряд и тем самым способствуя дегидратации, ТХУК необратимо осаждает белки и не затрагивает, оставляя в растворе, продукты их деструкции – полипептиды.

ИК-спектры саркоплазматических белков, осажденных из водного экстракта мышечной ткани 96%-м этанолом и 5%-м раствором трихлоруксусной кислоты, показали заметное различие в спектральных характеристиках осадков белков, полученных двумя разными по механизму действия осадителями и высущенных при 20 ºС (рис. 4). Близкие по содержанию белковых компонентов, они отличаются по форме полосы Амид-I. В образце, полученном осаждением этанолом, существенно больше липидных компонентов, о чем говорят полосы 1748, 3008 и сложная полоса в виде трезубца с максимумом при 1160 см$^{-1}$, характеризующая колебания С-О-групп жирных кислот липидных компонентов. В спектрах обоих образцов практически отсутствуют полисахариды.

На рис. 5, *а* представлены фрагменты спектров протеиновой области водного и солевого экстрактов из мышечной ткани и мышечного волокна свинины, высушенных при 20 ºС (см. рис. 3). Спектр водного экстракта, лежащий существенно ниже, имеет деформированную первую полосу в отличие от ее симметричного контура в спектре солевого экстракта (1652 см$^{-1}$). Фрагменты спектров пула саркоплазматических белков, представленных на рис. 5, *b*, позволяют отметить их различие в зависимости от природы осадителя. Полоса Амид-I в спектре образца, полученного осаждением этанолом, многократно структурирована, но положение максимума (1652 см$^{-1}$) указывает на преобладание в нем глобулинов. Более четкое спектральное разделение альбуминов (1650 см$^{-1}$) и глобулинов (1620 см$^{-1}$) позволяет наблюдать их осаждение ТХУК, что отвечает дифференциации двух максимумов в составе полосы Амид-I.

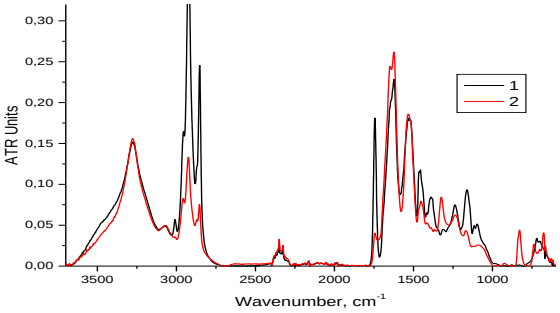


Рис. 4. ИК-спектры саркоплазматических белков, выделеных из водного экстракта этанолом (1) и ТХУК (2)

Fig. 4. IR spectra of sarcoplasmic proteins isolated from an aqueous extract with ethanol (1) and trichloracetic acid (2)

ИК-спектры саркоплазматических и миофибриллярных белков, выделенных из водного и солевого экстрактов осаждением этанолом, а также белков стромы, полученных последовательной экстракцией из мышечного волокна углеводной составляющей стромы и высушенных при 20 ºС, иллюстрирует рис. 5, *с*. В спектре миофибриллярных белков актомиозинового комплекса (кривая 2) также наблюдается четкая структуризация полосы Амид-I с разделением максимума на две составляющие. Полоса 1623 см$^{-1}$ принадлежит фибриллярному белку миозину, являющемуся основным белком мышечной ткани всех млекопитающих, птиц и рыб (40–60% от общего количества мышечных белков), с очень большим, примерно 1,5 млн, молекулярным весом. Полоса 1650 см$^{-1}$ обусловлена актином, вторым важным белком сократительного комплекса. Актин может существовать в двух формах – глобулярной мономерной (G-актин) и фибриллярной. (F-актин), которая формируется при полимеризации G-актина в покоящейся мышце. При мышечном сокращении он переходит в глобулярную. Молекулярный вес актина около 75 000 Да. В мышечной ткани его содержится 12–15% [26]. При обработке мышечной ткани солевыми растворами в экстракт переходит актомиозин с неопределенным содержанием актина, которое зависит от длительности извлечения сократительных белков.

Совершенно необычным выглядит спектр белков стромы (кривая 3). Следует отметить, что положение острого асимметричного максимума второй полосы (1563 см$^{-1}$) в спектре белков стромы стабильно независимо от разного рода обработок. Его интенсивность может меняться в зависимости от интенсивности первой полосы. Соотношение их интенсивности во многом зависит от вида, качества и анатомической части исходного мышечного сырья.

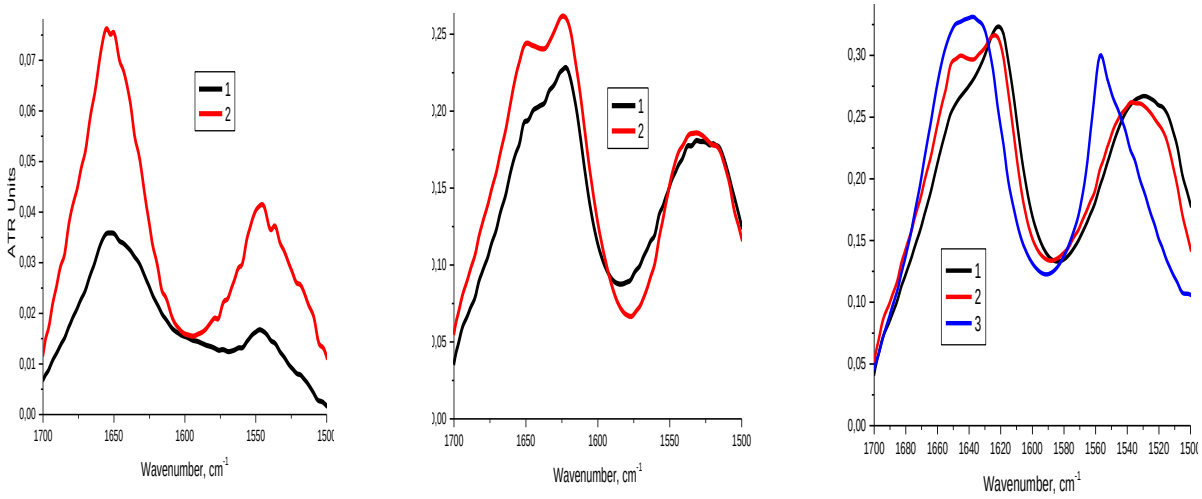


Рис. 5. Фрагменты ИК-спектров (1750–1500 см$^{-1}$): а – водного (1) и солевого (2) экстрактов; b – саркоплазматических белков, осажденных: 1 – этанолом; 2 – ТХУК; с – белков:1 – саркоплазматических; 2 –миофибриллярных; 3 – стромы

Fig. 5. Fragments of IR spectra (1750–1500 cm^{-1}): a – water (1) and salt (2) extracts; b – sarcoplasmic proteins precipitated by: 1 – ethanol; 2 – trichloracetic acid; c – proteins:1 – sarcoplasmic; 2 –myofibrillar; 3–stroma

Поскольку в растительных тканях преобладают водорастворимые белки, преимущественно альбумины и глобулины, для сравнения с ними подходят саркоплазматические белки мышечной ткани животных. В связи с этим в данной работе исследовалось влияние на ИК-спектр протеин-содержащих продуктов переработки семян льна условий их экстракции из разных форм сырьевого материала и выделения осаждением, а также температурных условий сушки.

Белки и протеин-полисахаридные комплексы семян льна. Основная масса водорастворимых белков (альбумины, глобулины, глютелины), находится в ядре и экстрагируются из измельченных семян вместе с полисахаридами. Однако процесс выхода слизи в водный раствор из цельных семян неизбежно сопровождается экстракцией водорастворимых протеиновых фракций, находящихся в оболочке и эндосперме семян льна. На рис. 6 приведены спектры образцов протеин-полисахаридных комплексов, полученных водной экстракцией при pH = 6,0 из цельных и измельченных семян льна промышленного, осажденных этанолом и высушенных в термостате при 40–45 ºС.

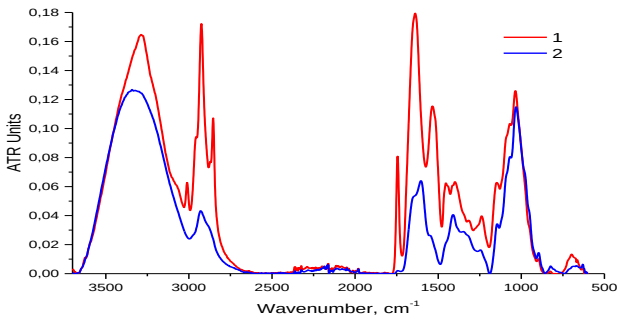


Рис. 6. ИК-спектры сухих образцов полисахаридных комплексов, полученных из измельченных (1) и цельных (2) семян промышленного льна

Fig. 6. IR spectra of dry samples of polysaccharide complexes obtained from grinded (1) and whole (2) seeds of flax industrial

Сопоставление спектральных кривых показывает существенную разницу в оптических свойствах образцов: спектр образца, полученного из измельченных семян, расположен существенно выше и заметно отличается по форме. В нем протеины представлены двумя полосами – Амид-I (1680 см$^{-1}$) и Амид-II (1540 см$^{-1}$), типичными для белковых структур как растительного, так и животного происхождения. В то время в спектре полисахаридного комплекса, выделенного из цельных семян, присутствует одна структурированная полоса (1605 см$^{-1}$), характерная для полипептидных компонентов в составе полисахаридной матрицы. Наличие узкой полосы при 1743 см$^{-1}$, где регистрируются C=O-группы жирных карбоновых кислот, говорит о том, что в белок-полисахаридных комплексах, полученных из измельченных семян, содержится значительное количество липидных компонентов, а присутствие полос в областях 3008 и 722 см$^{-1}$, характеризующих соответственно валентные и деформационные колебания CH-групп при двойной связи (CH=CH), указывает на заметное содержание в их составе ненасыщенных жирных кислот.

Спектральные кривые, представленные на рис. 7, позволяют сопоставить оптические свойства сухих образцов белковых концентратов, полученных из промышленного жмыха (после отделения масла холодным прессованием), в зависимости от способа его обработки перед водно-солевой экстракцией при pH = 6 и условий сушки после ИЭТ-осаждения при pH = 4,2. Образцы белковых концентратов получали из жмыха, предварительно обезжиренного гексаном (№ 1 – 55,80% белка) и прошедшего процедуры удаления слизи водной экстракцией и обезжиривания (№ 2 – 61,50% белка). После ИЭТ-осаждения образцы сушились при 40–45 ºС в термостате.

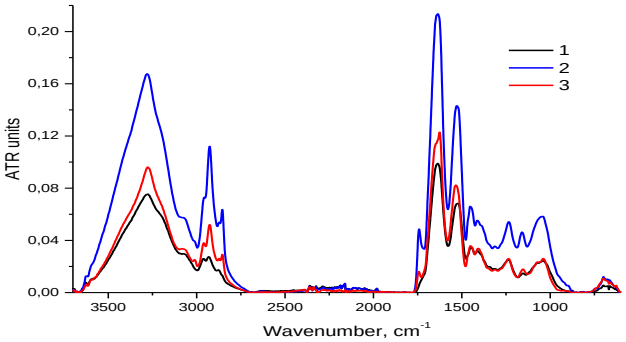


Рис. 7. ИК-спектры образцов белковых концентратов из промышленного жмыха семян льна

Fig. 7. IR spectra of protein concentrates from industrial flax seed cake

Сопоставление спектров 1 и 2 показывает, что введение стадии удаления слизи водной экстракцией жмыха приводит к заметному росту выхода белкового продукта, что следует и из более высокой интенсивности полос Амид-I и Амид-II при близости общего характера кривых светопоглощения (см. рис. 7). Образец № 3 получен прямой солевой экстракцией без всякой предварительной обработки жмыха и после ИЭТ-осаждени проходил воздушную сушку при 20 ºС на предметном столике прибора для исключения влияния температурного фактора. Его спектр существенно ближе к спектру образца № 1, а наиболее важным отличием от образцов № 1 и № 2 является структурированная форма полосы Амид-I.

Сопоставление оптических характеристик саркоплазматических белков мышечной ткани, полученных осаждением этанолом, и белков, выделенных ИЭТ-осаждением из жмыха семян льна (образец № 3) и прошедших воздушную сушку при 20 ºС, показывает аналогию, но лишь

в общем характере спектров (рис. 8). В обоих образцах присутствуют примеси липидных и полисахаридных компонентов.

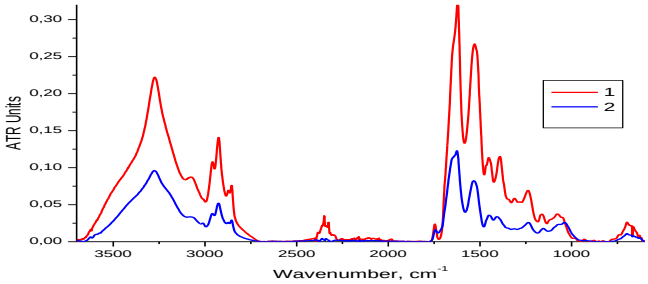


Рис. 8. ИК-спектры водорастворимых белков:
1 – саркоплазмы мышечной ткани; 2 – жмыха семян льна, высушенных при 20 ºС (образец № 3)

Fig. 8. IR spectra of water-soluble proteins:
1 – sarcoplasm of muscle tissue; 2 – cake of flax seed (no. 3), dried at 20 ºC

Фрагменты спектров в области 1750–1500 см$^{-1}$ (рис. 9) позволяют сопоставить и проанализировать влияние температуры сушки, анатомической части и природы исходного сырья на спектральные характеристики растительных и животных протеинов. Рис. 9, *a* иллюстрирует фрагменты ИК-спектров пептид-полисахаридных продуктов водной экстракции из обрушенной оболочки и цельных семян, осажденных этанолом и высушенных при 40–45 ºС. В обоих случаях в протеиновой области отмечаются одиночные полосы, отличающиеся по интенсивности и форме, с повышенным содержанием протеинов в образце, полученном из измельченной семенной оболочки. Для образца протеин-полисахаридного комплекса, полученного из цельных семян, характерно более высокое содержание липидов (1748 см$^{-1}$). Обращает на себя внимание то, что классический дублет белковых полос Амид-I и Амид-II (рис. 9, *b*), присутствующий только в спектрах белковых концентратов, выделенных из жмыха (№ 1 и № 2) и белок-полисахаридного комплекса (см. рис. 6, кривая 1), высушенных при 40-45 ºС, независимо от способа осаждения, наблюдается в спектрах всех лиофилизованных белоксодержащих биологических материалах, в том числе альбуминов животного происхождения и сыворотки крови животных (см. рис. 1 и 2). Спектр образца белкового концентрата № 3, прошедший воздушную сушку при 20 ºС, имеет структурированную полосу Амид-I (рис. 9, *b*, кривая 3).

Влияние температурного фактора на спектр при сушке белковых компонентов как растительного, так и животного происхождения подтверждают кривые светопоглощения белков семян льна и саркоплазматических белков мышечной ткани свинины (рис. 9, *c*), высушенных при 20 ºС. В обоих случаях первая амидная полоса, несущая структурную информацию о белке, деформирована. Вклад в деформацию в определенной степени может вносить не только возможность дифференциации глобулярных белков (альбуминов и глобулинов), но и упаковка их полипептидных цепей при реконструкции или формировании новой вторичной структуры, разрушенной в результате различных механических и химических вмешательств. Комплекс полученных данных указывает на то, что повышенная температура оказывает существенное влияние на структурно-конформационные преобразования как белковых концентратов, так и белок-полисахаридных комплексов независимо от их природы.

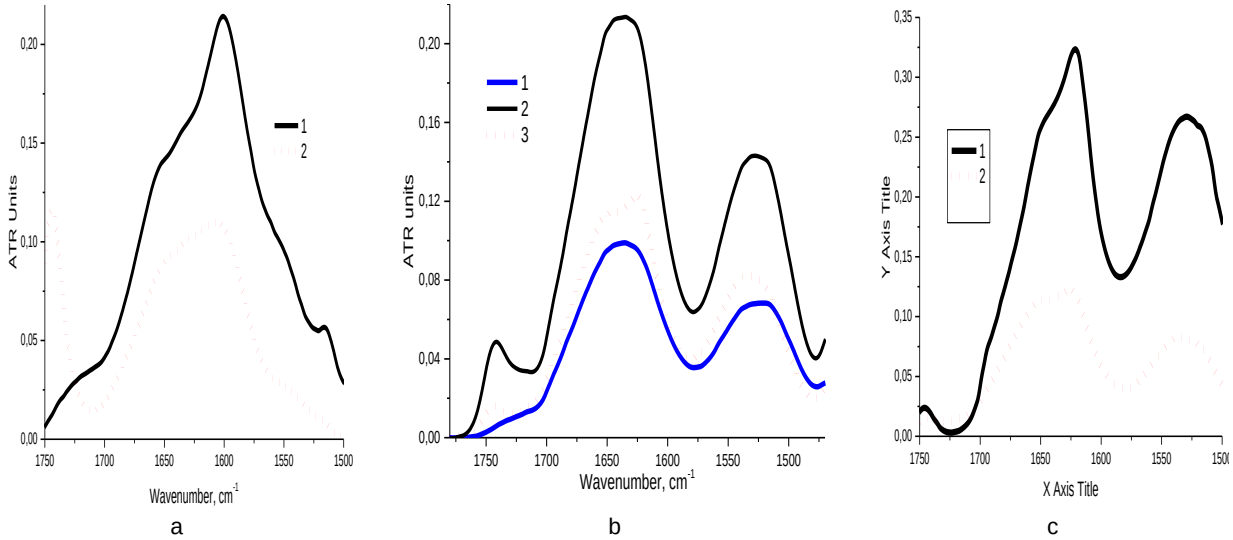


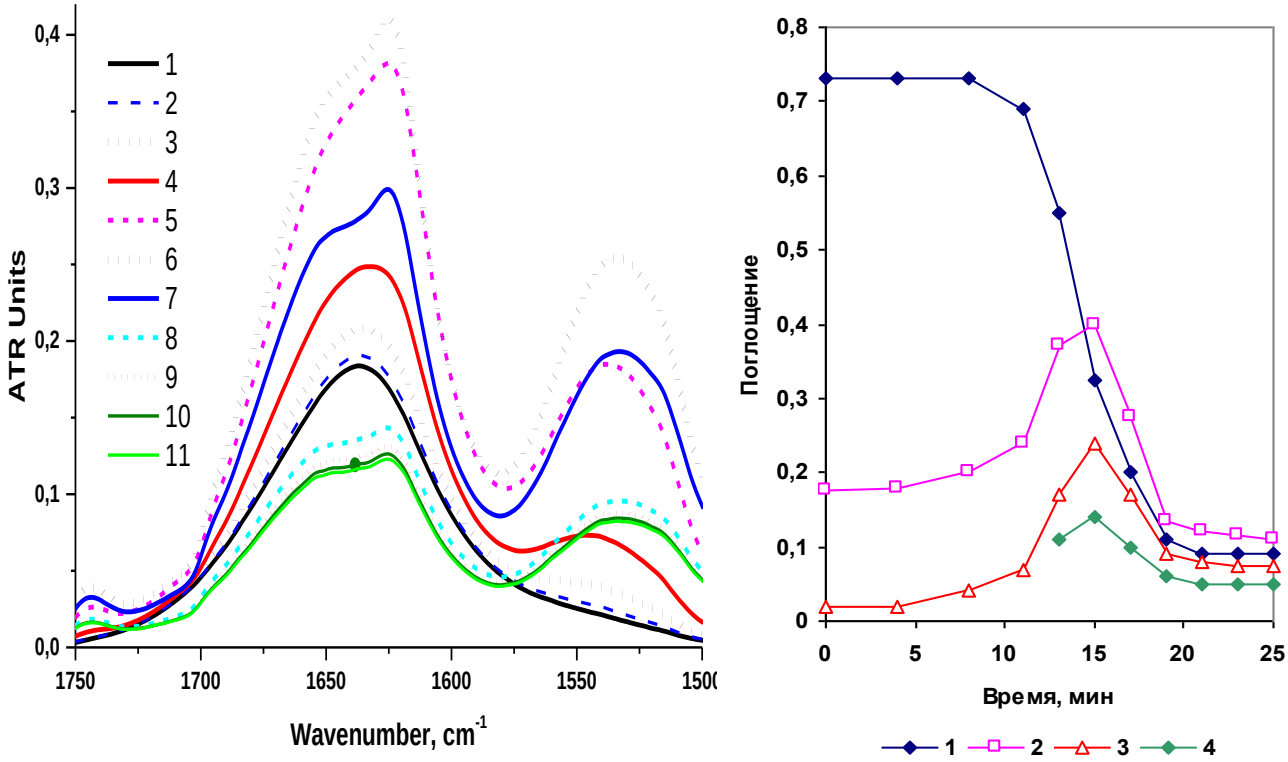
Рис. 9. Фрагменты ИК-спектров (1750–1500 см$^{-1}$): a – пептид-полисахаридных комплексов из:
1 – измельченной семенной оболочки, 2 – цельных семян льна; b – белковых концентратов:
1 – № 1; 2 – № 2; 3 – № 3; c – саркоплазматических белков мышечной ткани (1), белкового концентрата льна (2)

Fig. 9. Fragments of IR spectra (1750–1500 cm^{-1}): a – peptide-polysaccharide complexes from:
1 – crushed seed coat, 2 – whole flax seeds; b – protein concentrates:
1 – no. 1; 2 – no. 2; 3 – no. 3; c – sarcoplasmic proteins of muscle tissue (1), flax protein concentrate (2)

С целью оценки возможности контроля за характером изменений спектральных характеристик протеиновых структур по мере удаления воды в процессе естественной сушки ИК-спектры влажного белкового концентрата № 3 снимали в течение 25 мин через определенные промежутки времени при 20 ºС. Увеличенные фрагменты протеиновой области спектров иллюстрируют кинетику изменения его спектрального образа на разных этапах сушки (рис. 10, *a*). Именно на этих фрагментах в процессе естественного удаления воды отчетливо проявлены неоднозначность и скачкообразный характер изменений спектральных характеристик образца. Анализируя форму полос, их структуру, интенсивность, положение и сдвиги максимумов в области 1750–1500 см$^{-1}$ можно отметить, что в первых двух спектрах, полученных в течение первых 4-х мин, присутствует только одна полоса деформационных колебаний ОН-групп молекул воды – 1643 см$^{-1}$, совпадающая с первой протеиновой полосой. В спектре 3 в области 1540 см$^{-1}$ начинает проявляться вторая полоса протеинов; к 11 мин сушки (спектр 4) обе полосы увеличиваются по интенсивности, при этом первая полоса смещается батохромно в положение 1635 см$^{-1}$.

В спектре 5 (13 мин) интенсивность обеих полос резко возрастает, но у первой полосы максимум регистрируется уже в положении 1620 см-^{1}. Максимальной интенсивности обе полосы достигают в спектре 6 (к 15 мин); при этом наблюдается структуризация первой – на ее левой ветви в области 1657 см$^{-1}$ появляется плечо, второй максимум смещается в низкочастотную область (1536 см$^{-1}$). С этого момента обе протеиновые полосы, сохраняя структуру и положение максимумов, резко снижаются по интенсивности, стабилизируясь к 23–25 мин. Спектры 10 и 11 отвечают хрупкой пленке сухого белкового концентрата.

Рис. 10, *b* иллюстрирует кинетику изменения интенсивности основных полос в процессе воздушной сушки образца белкового концентрата № 3. После достижения максимума к 15 мин сушки интенсивность всех полос резко падает, но при этом продолжает снижаться и интенсивность полосы NH-групп (3250 см$^{-1}$). Все полосы стабилизируются по положению максимумов и поглощению к 23–25 мин сушки. Резкий перелом на кривых к 15 мин может говорить о внутри- и межмолекулярном взаимодействиях C=O, NH- и CH-групп, интенсифицирующих процесс удаления остаточной воды с образованием компактной, но хрупкой пленки.



a b

Рис. 10. Изменение интенсивности основных полос в ИК-спектрах образца № 3 в процессе сушки: a – протеиновая область (1750–1500см$^{-1}$): 1 – 0; 2 – 4; 3 – 8; 4 –11; 5 –13; 6 – 15; 7 – 17; 8 – 19; 9 – 21; 10 – 23; 11 – 25 мин; b – полосы: 1 – 3250; 2 – 1620; 3 – 1540; 4 – 2927 см$^{-1}$

Fig. 10. a – change in IR spectra (1750–1500 cm^{-1}): 1 – 0; 2 – 4; 3 – 8; 4 -11; 5 -13; 6 – 15; 7 – 17; 8 – 19; 9 – 21; 10 – 23; 11 – 25 min; b – change in the intensity of the main bands: 1 – 3250; 2 – 1620; 3 – 1540; 4 – 2927 cm^{-1} in the process of sample no. 3 drying

Характер изменения протеиновой области спектра пептид-полисахаридного комплекса (рис. 11, *a*), выделенного из обрушенной оболочки семян льна, совсем не похож на тот, что наблюдался при сушке белкового концентрата (см. рис. 10, *a*). По мере ухода воды (кривые 1 и 2 – полоса деформационных колебаний ее ОН-групп) весь спектр поднимается (кривая 3) с формированием новых полос в области 1593, 1542 и 1515 см$^{-1}$. Дальнейшая сушка приводит к существенному изменению общего вида спектра. Снижается интенсивность полосы 1638 см$^{-1}$ и резко возрастает полоса 1593 см$^{-1}$. Общий вид кривых 8 и 9 и кинетика изменения спектральных характеристик близки по характеру к данным по пептид-полисахаридному комплексу, полученному из цельных семян льна (см. рис. 9, *a*).

Интересные результаты показало графическое представление кинетики изменения характера спектральных кривых при воздушной сушке саркоплазматических белков мышечной ткани свинины (рис. 11, *b*), в которых оказалось много общего с данными, полученными для белкового концентрата из семян льна (см. рис. 10, *a*), в том числе и по преобладанию в них глобулиновой фракции. Кроме того, отмечено, что в процессе воздушной сушки альбумины теряют связанную воду быстрее, чем глобулины.

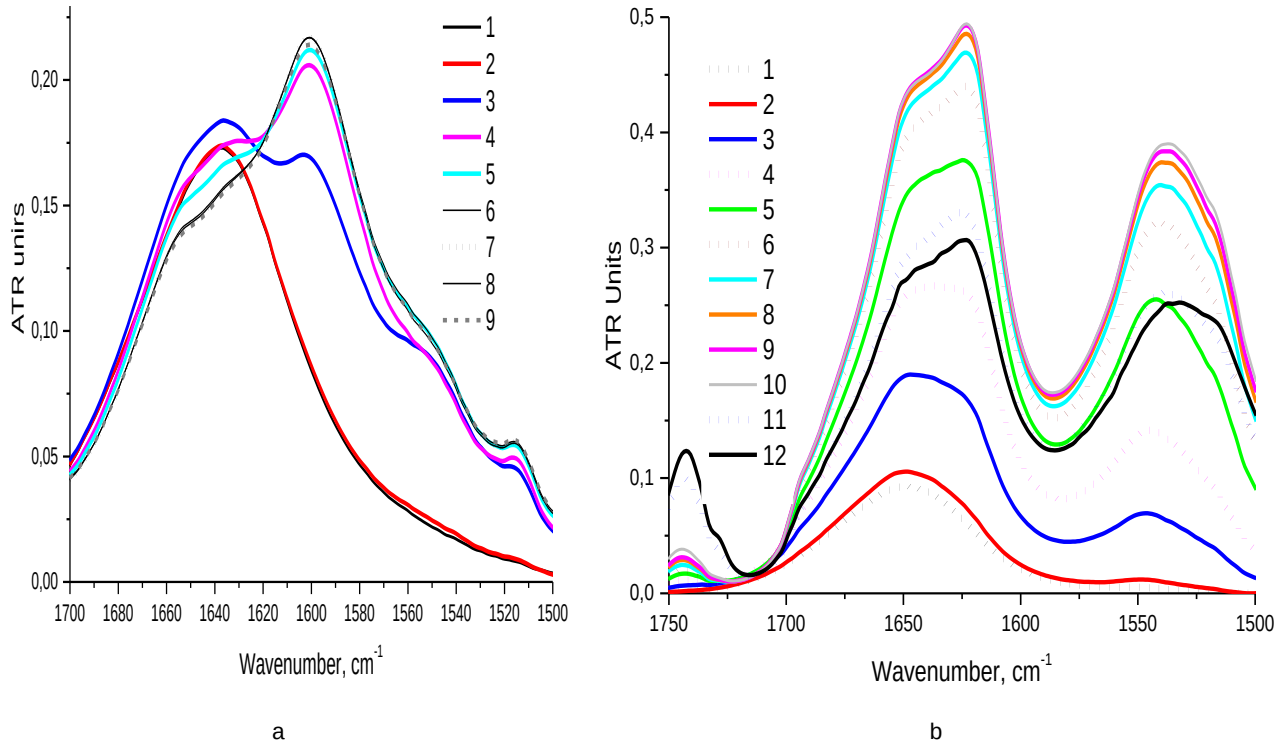


Рис. 11. Изменение ИК-спектров протеиновой области (1750–1500 см$^{-1}$) при сушке (20 °С) сырых образцов:
a – пептид-полисахаридного комплекса из оболочки семян льна;
b – саркоплазматических белков мышечной ткани свинины

Fig. 11. Change in the IR spectra (1750–1500 cm^{-1}) during raw samples drying (20 °C):
a – peptide-polysaccharide complex of flax seeds;
b – sarcoplasmic proteins of pork muscle tissue

ВЫВОДЫ

Варьирование анатомической части семян льна (обрушенные ядро и семенная оболочка) и их сырьевой формы (цельное, измельченное, жмых), а также условий экстрагирования и выделения целевых протеинсодержащих продуктов позволяет получать их расширенный ассортимент – белковые концентраты, белок-полисахаридные и белок-липид-полисахаридные комплексы, пептид-полисахариды с переменным соотношением компонентов, которые могут быть использованы в пищевой, косметической промышленности, медицинской и фармацевтической практике.

Сравнительное исследование методом ИКС НПВО глобулярных белков саркоплазмы мышечной ткани свинины и семян льна масличного, извлеченных из сырья водно-солевой экстракцией и выделенных осаждением этанолом, ТХУК и ИЭТ-осаждением, показало много общего в кинетике изменений рисунка спектральных кривых сырых растительных и животных образцов, сушившихся при 20 °С. Экстремальный характер изменения интенсивности основных полос в обоих случаях обусловлен началом активного образования межмолекулярных связей CO и NH групп пептидных цепей по мере удаления из системы связанных молекул воды.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кауль А.К., Джесвани Л.М., Денди Д.А.В. и др. Источники пищевого белка. М.: Колос, 1979. 302 с.

2. Толстогузов В.Б. Новые формы белковой пищи. М.: Агропромиздат, 1987. 303 с.

3. Рудинцева Т.А., Сафронова Г.А., Нечаева Н.Г. Лечебно-профилактические мясные продукты // Мясная промышленность. 1994. N 6. С. 26–27.

4. Хлебников В.И., Дмитриенко С.Ю. Качество мясных изделий, обладающих функциональными свойствами // Пищевая технология. 2004. N 1 (2780. С. 67–68.

5. Самченко О.Н. Использование мяса диких животных в технологии мясных изделий // Наука и современность. 2013. N 24. С. 220–224.

6. Берлова Г.А. Мясо диких животных. Особые правила, особые рецепты // Всё о мясе. 2008. N 6. С. 58–59.

7. Герасимова Н.Ю. Нетрадиционные виды мясного сырья для производства функциональных продуктов // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2012. N 2-3 (326-327). С. 17–20.

8. Таева А.М. Микроструктурные исследования мяса казахского двугорбого верблюда // Мясная индустрия. 2016. N 8. С. 46–49.

9. Нестеренко А.А., Патиева А.М., Ильина Н.М. Инновационные технологии в производстве колбасной продукции: монография. Саарбрюккен: Pahnarium Academic Publishing, 2014. 165 с.

10. Щербакова Е.В Применение биотехнологических методов при переработке растительного масличного сырья. Краснодар: Ризограф, 2006. 288 с.

11. Овчаров С.И. Совершенствование технологии получения белковых изолятов из подсолнечного жмыха // Молодой ученый. 2015. N 12 (92). С. 267–270.

12. Усатюк С.И., Савчук Ю.Ю. Исследование процесса экстрагирования белка из грецкого ореха // Вестник Алматинского технологического университета. 2015. N 2. С. 22–26.

13. Комов В.П., Шведова В.Н. Биохимия. М.: Дрофа, 2004. 618 с.

14. Воронова Н.С., Бердина Л.С. Исследование белков семян льна как полноценных и необходимых для здоровья человека // Молодой ученый. 2015. N 14 (94). С. 144–147.

15. Цыганова Т.Б., Миневич И.Э., Зубцов В.А., Осипова Л.Л. Пищевая ценность семян льна и перспективные направления их переработки. Калуга: Эйдос, 2010. 124 с.

16. Миневич И.Э., Осипова Л.Л., Ущаповский И.В., Абрамов Д.В., Краюшкина В.Н. Технология получения белковых концентратов из льняного жмыха для использования в промышленном производстве // Хлебопродукты. 2019. N 8. С. 34–37. https://doi.org/10.32462/0235-2508-2019-30-8-34-37

17. Скоупс Р.К. Методы очистки белков / пер. с агл. В.К. Антонова. М.: Мир. 1985. 358 с.

18. Nadathur S.R., Wanasundara J.P.D., Scanlin L. Sustainable protein sources. Academic Press, 2017.456 p.

19. Stuart B.H. Infrared spectroscopy: fundamentals and applications. N.-Y.: Wiley, 2004. 242 p.

20. Сильверстейн Р., Вебстер Ф., Кимл Д. Спектрометрическая идентификация органических соединений / пер. с англ. Н.М. Сергеева, Б.Н. Тарасевича. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. 557 с.

21. Krimm S., Bandekar J. Vibrational spectroscopy and conformation of peptides, polypeptides, and proteins // Advances in Protein Chemistry.1986. Vol. 38. P. 181–364.

22. Рогов И.А., Забашта А.Г., Казюлин Г.П. Общая технология мяса и мясопродуктов. М.: Колос. 2000. 367 с.

23. Блынская Е.В., Тишков С.В., Алексеев К.В. Технологические подходы к совершенствованию процесса лиофилизации белковых и пептидных лекарственных препаратов // Российский биотерапевтический журнал. 2017. Т. 16. N 1. С. 6–11. https://doi.org/10.17650/1726-9784-2017-16-1-6-11

24. Игнатов В.Е., Пойманов В.В., Нестеров Д.А. Исследование процесса вакуум-сублимационной сушки бактериальных концентратов // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2013. N 1. С. 27–29. https://doi.org/10.20914/2310-1202-2013-1-27-29

25. Busher J.T. Serum Albumin and Globulin. In: Walker Y.K., Hall W.D., Hurst J.W. (ed.). Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd edition. Boston: Butterworths, 1990. Chapter 101. P. 497–499.

26. Кубасова Н.А., Цатурян А.К. Молекулярный механизм работы актин-миозинового мотора в мышце // Успехи биологической химии. 2011. Т. 51. С. 233–282.

REFERENCES

1. Caule AK, Jeswani LM, Dendi DAV, et al. *Food protein sources*. Moscow: Kolos; 1979. 302 p. (In Russian)

2. Tolstoguzov VB. *New forms of protein food*. Moscow: Agropromizdat, 1987. 303 p. (In Russian)

3. Rodintseva TA, Safronova GA, Nechaeva NG. Medioprophylactic meat products. *Myasnaya promyshlennost'*. 1994;6:26–27. (In Russian)

4. Khlebnikov VI, Dmitrienko SYu. Quality of meat products with functional properties. *Pishchevaya tekhnologiya = Food technology*. 2004;1:67–68. (In Russian)

5. Samchenko ON. Use of meat of wild animals in meat products technology. *Nauka i sovremen-*

nost'. 2013;24:220–225. (In Russian)

6. Berlova GA. Meat of wild animals. Special rules, special recipes. *Vse o myase.* 2008;6:58-62. (In Russian)

7. Gerasimova NYu. Non-traditional meat raw material for functional products manufacture. *News of Institutes of Higher Education. Food technology*. 2012;2-3:17–20. (In Russian)

8. Taeva AM. Microstructural investigations of meat from kazakh bactrian camel. *Myasnaya industriya.* 2016;8;46–49. (In Russian)

9. Nesterenko AA, Patieva AM, Il'ina NM. *Innovative technologies in sausage products production.* Saarbrücken: Pahnarium Academic Publishing; 2014. 165 p. (In Russian)

10. Shcherbakova EV. *Application of biotechnological methods in the processing of vegetable oilseeds.* Krasnodar: Rizograf; 2006; 288 p. (In Russian)

11. Ovcharov SI. Improvement of the technology for obtaining protein isolates from sunflower cake. *Molodoi uchenyi.* 2015;12;267–270. (In Russian)

12. Usatyuk SI, Savchuk YY. Investigation of protein extraction out of walnut. *Vestnik Almatinskogo tekhnologicheckogo universiteta = The Journal of Almaty Technological University*. 2015;2:22–26. (In Russian)

13. Komov VP, Shvedova VN. *Biochemistry*. Moscow: Drofa; 2004. 618 p. (In Russian)

14. Voronova NS, Berdina LS. Research of flax seed proteins as full-fledged and necessary for human health. *Molodoi uchenyi.* 2015;14;144–147. (In Russian)

15. Tsyganova TB, Minevich IE, Zubtsov VA, Osipova LL. *Nutritional value of flax seeds and promising directions of their processing*. Kaluga: Eidos; 2010. 124 p. (In Russian)

16. Minevich IE, Osipova LL, Ushchapovskiy IV, Abramov DV, Krayushkina VN. Technology for obtaining protein concentrates from flax meal to use in industrial production *Khleboprodukty.* 2019;8:34–37. (In Russian) https://doi.org/10.32462/0235-2508-2019-30-8-34-37

17. Scopes RK. *Protein purification. Principles and Practice.* New York: Springer-Verlag; 1982. (Russ. ed.: Skoups RK. *Metody ochistki belkov*. Moscow: Mir; 1985. 358 p.)

18. Nadathur SR, Wanasundara JPD, Scanlin L. *Sustainable protein sources*. Academic Press; 2017. 456 p.

19. Stuart BH. *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications*. New York.: Wiley; 2004. 242 p.

20. Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. John Willey & Sons, 2005. (Russ. ed.: Sil'verstein R, Vebster F, Kiml D. *Spektrometricheskaya identifikatsiya organicheskikh soedinenii.* Moscow: BINOM. Laboratoriya znanii; 2011. 557 p.)

21. Krimm S, Bandekar J. Vibrational spectroscopy and conformation of peptides, polypeptides, and proteins. *Advances in Protein Chemistry*. 1986;38:181–364.

22. Rogov IA, Zabashta AG, Kazyulin GP. General technology of meat and meat products. Moscow: Kolos; 2000. 367 p. (In Russian)

23. Blynskaya EV, Tishkov SV, Alekseev KV. Technological approaches to improving the process lyophilization of protein and peptide drugs. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal = Russian Journal of Biotherapy.* 2017;16(1):6–11. (In Russian) https://doi.org/10.17650/1726-9784-2017-16-1-6-11

24. Ignatov VE, Poimanov VV, Nesterov DA. Research of bacterial concentrates freeze-drying process. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologii = Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies.* 2013;1:27–29. (In Russian) https://doi.org/10.20914/2310-1202-2013-1-27-29

25. Busher JT. Serum Albumin and Globulin. In: Walker YK, Hall WD, Hurst JW. (eds.) *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd ed. Boston: Butterworths; 1990. Chapter 101. p. 497–499.

26. Kubasova NA, Tsaturyan AK. Molecular mechanism of actin-myosin motor in muscle. *Uspekhi biologicheskoi khimii.* 2011;51:233–282. (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Нечипоренко Алла Павловна,
д.х.н., профессор,
Национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики,
197101, г. Санкт-Петербург,
Кронверкский пр-т, 49,
Российская Федерация,
✉ e-mail: allanech2512@yandex.ru

Миневич Ирина Эдуардовна,
к.т.н., ведущий научный сотрудник,
Федеральный научный центр лубяных культур,
170041, г. Тверь, Комсомольский пр-т, 17/56,

AUTHORS' INDEX

Alla P. Nechiporenko,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics,
49, Kronverkskii Ave., St. Petersburg, 197101,
Russian Federation,
✉ e-mail: allanech2512@ yandex.ru

Irina E. Minevich,
Cand. Sci. (Engineering),
Leading Researcher,
Federal Scientific Center for Fiber Crops,

Российская Федерация,
e-mail: irina_minevich@mail.ru

17/56, Komsomolskii Ave., Tver, 170041, Russian Federation,
e-mail: irina_minevich@mail.ru

Орехова Светлана Михайловна,
к.т.н., заведующая лабораторией химико-биологического класса,
Национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики,
197101, г. Санкт-Петербург,
Кронверкский пр-т, 49,
Российская Федерация,
e-mail: sveta.orehova2012@yandex.ru

Svetlana M. Orehova,
Cand. Sci. (Engineering),
Head of the Laboratory of Chemical and Biological Class,
National research University of Information Technologies, Mechanics and Optics,
49, Kronverkskii Ave., St. Petersburg, 197101, Russian Federation,
e-mail: sveta.orehova2012@yandex.ru

Ситникова Вера Евгеньевна,
к.х.н., старший преподаватель,
Национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики,
197101, г. Санкт-Петербург,
Кронверкский пр-т, 49,
Российская Федерация,
e-mail: kresenka@gmail.com

Vera E. Sitnikova,
Cand. Sci. (Chemistry),
Senior Lecturer,
National research University of Information Technologies, Mechanics and Optics,
49, Kronverkskii Ave., St. Petersburg, 197101, Russian Federation,
e-mail: kresenka@gmail.com

Громова Диана Александровна,
магистрант,
Национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики,
197101, г. Санкт-Петербург,
Кронверкский пр-т, 49,
Российская Федерация,
e-mail: 16adianay@gmail.com

Diana A. Gromova,
Master Student,
National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics,
49, Kronverkskii Ave., St. Petersburg, 197101, Russian Federation,
e-mail: 16adianay@gmail.com

Успенская Майя Валерьевна,
д.т.н., профессор, директор научно-исследовательского центра биоинженерии,
Национального исследовательского университета информационных технологий, механики и оптики,
197101, г. Санкт-Петербург,
Кронверкский пр-т, 49,
Российская Федерация,
e-mail: mv_uspenskaya@mail.ru

Mayya V. Uspenskaya,
Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Director of the Research Center for Bioengineering,
National research University of Information Technologies, Mechanics and Optics,
49, Kronverkskii Ave., St. Petersburg, 197101, Russian Federation,
e-mail: mv_uspenskaya@mail.ru

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Статья поступила в редакцию 25.03.2020; одобрена после рецензирования 16.07.2020; принята к публикации 30.11.2020.

Conflict interests

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

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

The article was submitted 25.03.2020; approved after reviewing 16.07.2020; accepted for publication 30.11. 2020.