

ISSN 2227-2925 (print)
ISSN 2500-1558 (online)

12+

Том 12 N 4

2022



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ

**Прикладная химия
и биотехнология**

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ

ИРКУТСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия
и биотехнология

Том 12 N 4 (43) 2022



ИЗДАТЕЛЬСТВО
Иркутского национального исследовательского
технического университета



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия и биотехнология
Том 12 N 4 (43) 2022

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор:

Евстафьев С.Н.

д.х.н., профессор, заведующий кафедрой химии и биотехнологии Иркутского национального исследовательского технического университета (г. Иркутск, Россия)

Члены редакционной коллегии:

Боровский Г.Б.

д.б.н., профессор, заместитель директора Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск, Россия)

Братская С.Ю.

д.х.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией сорбционных процессов Института химии ДВО РАН (г. Владивосток, Россия)

Варфоломеев С.Д.

д.х.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор Института биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН (г. Москва, Россия)

Верпоорт Фрэнсис

доктор наук, профессор кафедры экологических технологий, пищевых технологий и молекулярной биотехнологии, Гентский Университет Глобал Кампус (филиал в Корее), (г. Инчхон, Корея)

Воронов В.К.

д.х.н., профессор, Заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры информатики Иркутского национального исследовательского технического университета (г. Иркутск, Россия)

Го Эн-зюнь

профессор, заведующий лабораторией координационной химии Шеньянского института химической технологии (г. Шеньян, Китай)

Дадашев М.Н.

д.т.н., профессор, главный научный сотрудник кафедры физической и коллоидной химии Российского государственного университета нефти и газа им. И.М. Губкина (г. Москва, Россия)

Иоелович М.Я.

д.х.н., профессор, руководитель химического отдела биотехнологической компании "Celdesigner" (г. Реховот, Израиль)

Непомнящих А.И.

д.ф.-м.н., профессор, Заслуженный деятель науки РФ, заместитель директора Института геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН (г. Иркутск, Россия)

Пуревсурен Б.

доктор наук, академик АН Монголии, заведующий лабораторией химии угля Института химии и химической технологии АН Монголии (г. Улан-Батор, Монголия)

Рахимнеджад

Мостафа

доктор наук, профессор кафедры химической инженерии Технологического университета Бабола Ноширвани (Бабола, Иран)

Рогожин В.В.

д.б.н., профессор, заведующий лабораторией исследования биологически активных веществ Якутской государственной сельскохозяйственной академии (г. Якутск, Россия)

Саловарова В.П.

д.б.н., профессор, заведующая кафедрой физико-химической биологии Иркутского государственного университета (г. Иркутск, Россия)

Санжиб Кумар Панда

доктор наук, профессор, профессор кафедры наук о жизни и биоинформатики Университета Ассам, (г. Силчар, Индия)

Ульянов Б.А.

д.т.н., профессор кафедры химической технологии топлива Ангарского государственного технического университета (г. Ангарск, Россия)

Хуторянский В.В.

к.х.н., профессор фармацевтической школы Университета Рединга (г. Лондон, Великобритания)

Чхенкели В.А.

д.б.н., профессор, заведующая кафедрой анатомии, физиологии и микробиологии Иркутского государственного аграрного университета (г. Иркутск, Россия)

Шен Янминг

профессор, заместитель декана факультета химической инженерии, Шеньянский институт химической технологии, (г. Шеньян, Китай)

Ответственный секретарь:

Чеснокова А.Н.

к.х.н., Иркутский национальный исследовательский технический университет (г. Иркутск, Россия)

Журнал основан в 2011 г.

Периодичность издания – 4 раза в год.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору
в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Свидетельство ПИ №ФС77-62814 от 18 августа 2015 г.

Учредитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Иркутский национальный исследовательский технический университет»

Подписной индекс в ООО «Урал-Пресс» – 41903

Адрес ООО «Урал-Пресс»: 620026, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Мамина-Сибиряка, д.130

Адрес учредителя и издателя:

664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83

Адрес редакции:

664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83, ауд. Е-211

E-mail: biochem@istu.edu

© ФГБОУ ВО «ИРНИТУ», 2022

PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
Applied chemistry and biotechnology
IZVESTIYA VUZOV.
Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya
Volume 12 N 4 (43) 2022

EDITORIAL BOARD

Editor in Chief :

Sergei N. Evstaf'ev

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Irkutsk National Research Technical University, Head of Chemistry and Biotechnology Department (Irkutsk, Russia)

Editorial council:

Gennadiy B. Borovskii

Dr. Sci.(Biology), Professor, Deputy Head of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, (Irkutsk, Russia)

Svetlana Yu. Bratskaya

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Correspondent member of RAS, Institute of Chemistry FEB RAS, Head of the Laboratory of Sorption Processes, (Vladivostok, Russia)

Sergey D. Varfolomeyev

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Correspondent member of RAS, Director of N.M. Emmanuel Institute of Biochemical Physics (Moscow, Russia)

Francis Verpoort

Dr., Professor, Department of Environmental Technology, Food Technology and Molecular Biotechnology, Ghent University Global Campus, (Incheon, Korea)

Vladimir K. Voronov

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Irkutsk National Research Technical University, Professor of Mathematics Department (Irkutsk, Russia)

Enjun Gao

Professor, Head of the Laboratory of Coordination Chemistry, Shenyang Institute of Chemical Technology (Shenyang, China)

Mirali N. Dadashev

Dr. Sci. (Engineering), Professor, Gubkin Russian State University of Oil and Gas, Senior research associate of Physical and Colloid Chemistry Department (Moscow, Russia)

Mikhail Ya. Ioelovich

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Head of Chemical Department, Biotechnology Company "Celdesigner" (Rehovot, Israel)

Alexander I.

Nepomnyashchikh

Purevsuren Barnasan

Dr. Sci. (Phys.-Math.), Professor, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Deputy Director of Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS (Irkutsk, Russia)

Dr. Sci. (Chemistry), Academician of Mongolian AS, Institute of Chemistry and Chemical Technology of Mongolian AS, Head of the Laboratory of Coal Chemistry (Ulan Bator, Mongolia)

Mostafa Rahimnejad

Ph.D. in Biotechnology-Chemical Engineering, Professor of chemical engineering department, Babol Noshirvani University of Technology (Babol, Iran)

Vasily V. Rogozhin

Dr. Sci.(Biology), Professor, Yakutsk State Agricultural Academy, Head of the Laboratory for bioactive substance studies (Yakutsk, Russia)

Valentina P. Salovarova

Dr. Sci.(Biology), Professor, Irkutsk State University, Head of Physical and Chemical Biology Department (Irkutsk, Russia)

Sanjib Kumar Panda

Dr., Professor, Assam University, Department of Life Science & Bioinformatics (Silchar, India)

Boris A. Ulyanov

Dr. Sci. (Engineering), Professor, Angarsk State Technical University, Head of Chemical Technology of Fuels Department (Angarsk, Russia)

Vitaliy V. Khutoryanskiy

Ph.D. (Chemistry), Professor of Pharmaceutical School of University of Reading (London, Great Britain)

Vera A. Chkhenkeli

Dr. Sci.(Biology), Professor, Irkutsk State Agricultural University, Head of Anatomy, Physiology and Microbiology Department (Irkutsk, Russia)

Yanming Shen

Professor, Vice-Dean of Department of Chemical Engineering, Shenyang Institute of Chemical Technology (Shenyang, China)

Executive Secretary:

Alexandra N. Chesnokova

Cand. Sci. (Chemistry), Irkutsk National Research Technical University (Irkutsk, Russia)

The journal was founded in 2011. The journal is issued 4 times a year.
The journal is registered with the Federal Agency for Supervision of Communications,
Information Technologies and Mass Media.

Certificate of registration FS 77-62814 of 18 August, 2015

The journal is included in Ulrich's Periodicals Directory Founder and Publisher:
the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education
Irkutsk National Research Technical University

The subscription code in Ural-Press LLC: 41903

The postal address of Ural-Press LLC: 130 Mamin-Sibiryak st.,
Yekaterinburg 620026, Russia

Address of the founder and publisher:

83 Lermontov St., Irkutsk 664074, Russian Federation

Editorial address:

E-211, 83 Lermontov St., Irkutsk 664074, Russian Federation,
E-mail: biochem@istu.edu

© of FGBOU VO "INRTU", 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Грабельных В. А., Богданова И. Н., Сосновская Н. Г., Истомина Н. В., Руссавская Н. В., Кондрашов Е. В., Бутрик Р. В., Корчевин Н. А., Розенцвейг И. Б. Особенности конденсации 2-хлорпиридина с тиомочевинной. Строение образующихся продуктов и их влияние на свойства покрытий при электрохимическом никелировании	498
Федотов А. А., Руденко Е. Ю. Получение адсорбентов из подсолнечной лузги для удаления хрома (VI) из сточных вод	506
Доржиева С. Г., Базарова Ж. Г. Получение, термические и диэлектрические характеристики $Rb_5Li_{1/3}Zr_{5/3}(MoO_4)_6$	514

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Топчий И. А., Стом Д. И., Донина К. Ю., Алферов С. В., Нечаева И. А., Купчинский А. Б., Огарков Б. Н., Петрова Ю. Ю., Антонова Е. В. Использование поверхностно-активных веществ в биодegradации гидрофобных соединений: обзор	521
Баран А. Влияние покрытия из цветочной камеди <i>Althaea rosea</i> , обогащенной эфирным маслом <i>Thymbra spicata</i> (Zahter), на срок годности и качество говяжьих котлет при хранении в охлажденном виде	538
Шерова З. У., Насриддинов А. С., Холов Ш. Ё., Усманова С. Р., Мухидинов З. К. Молекулярная масса и молекулярно-массовое распределение белка серицина, экстрагированного из отходов коконов <i>Bombyx mori</i>	547
Крыжко А. В., Смаглий Н. Н. Влияние штаммов <i>Bacillus thuringiensis</i> на ростовые и метаболические процессы в проростках <i>Pisum sativum</i> L.	557
Стурова Ю. Г., Гришкова А. В., Коньшин В. В. Оценка связи биохимических процессов и качества продукта при разработке биотехнологии сыра с благородной плесенью	566
Миневич И. Э., Нечипоренко А. П., Гончарова А. А., Ущаповский В. И. Исследование макронутриентов семян конопли в процессе кратковременного проращивания	576
Нам Н. В. Т., Лыонг Т. М., Юдина Н. Ю., Понаморева О. Н., Алферов С. В., Чи Ч. Н. Л., Зунг Н. Т., Зуен Ф. Т. М., Нгия В. Т. Распространение азоттрансформирующих бактерий в искусственном водоеме с высшими водными растениями	589
Тимкин П. Д., Пензин А. А. Биоинформатический метод определения однонуклеотидных полиморфизмов на примере гена <i>WIN</i> у <i>Glycine max</i>	599
Ширеторова В. Г., Эрдынеева С. А., Раднаева Л. Д. Элементный состав микростробилов и почек <i>Pinus sylvestris</i> , <i>Pinus sibirica</i> и <i>Pinus pumila</i>	605

ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Яковлев Н. С., Агаев С. Г. Влияние физико-химических свойств депрессорных присадок на их эффективность в дизельных топливах	612
---	-----

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Столбикова А. В., Дударева Л. В., Рудиковский А. В., Ставицкая З. О., Копытина Т. В., Рудиковская Е. Г. Особенности состава и содержания ауксинов в тканях яблони сибирской <i>Malus baccata</i> L. Borkh.	620
Окладникова В. О., Очиров О. С., Григорьева М. Н., Стельмах С. А. Полимер-полимерная смесь поливинилового спирта и полигексаметиленгуанидин гидрохлорида для задач антимикробной защиты поверхностей	627
Лисаневич М. С., Перушкина Е. В. Исследование возможности модификации нетканых материалов хлоргексидином с целью придания антибактериальных свойств	633

CONTENTS

CHEMICAL SCIENCES

Grabelnykh V. A., Bogdanova I. N., Sosnovskaya N. G., Istomina N. V., Russavskaya N. V., Kondrashov E. V., Butrik R. V., Korchevin N. A., Rozentsveig I. B. Characteristics of 2-chloropyridine and thiourea condensation. Structure of the as-formed products and their effect on coating properties during electrochemical nickel plating	498
Fedotov A. A., Rudenko E. Yu. Production of adsorbents based on sunflower husks for removal of chromium (VI) from wastewater.....	506
Dorzhieva S. G., Bazarova J. G. Synthesis, thermal and dielectric characteristics of $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$	514

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Topchiy I. A., Stom D. I., Donina K. Yu., Alferov S. V., Nechaeva I. A., Kupchinsky A. B., Ogarkov B. N., Petrova Yu. Yu., Antonova E. V. Use of surfactants in biodegradation of hydrophobic compounds: A review.....	521
Baran A. Effect of <i>Althaea rosea</i> flower gum loaded with <i>Thymbra spicata</i> (Zahter) essential oil coating on shelf life and quality of beef patties (Koefta) during cold storage	538
Sherova Z. U., Nasriddinov A. S., Kholov Sh. E., Usmanova S. R., Muhidinov Z. K. Molecular weight and molecular weight distribution of sericin protein extracted from cocoon waste of <i>Bombyx mori</i>	547
Kryzhko A. V., Smaglyi N. N. Effect of <i>Bacillus thuringiensis</i> strains on growth and metabolic processes in <i>Pisum sativum</i> L. sprouts	557
Sturova Yu. G., Grishkova A. V., Konshin V. V. Development of biotechnology for cheese having a noble mould: A relationship between biochemical processes and product quality	566
Minevich I. E., Nechiporenko A. P., Goncharova A. A., Uschapovsky V. I. Study of macronutrients in hemp seeds during short-term germination	576
Nam N. V. T., Luong T. M., Yudina N. Yu., Ponamoreva O. N., Alferov S. V., Chi T. N. L., Dung N. T., Duyen P. T. M., Nghia V. T. Distribution of nitrogen-transforming bacteria in an artificial reservoir populated with aquatic higher plants	589
Timkin P. D., Penzin A. A. Bioinformatic method for determining single nucleotide polymorphisms on the example of gene <i>WIN</i> in <i>Glycine max</i>	599
Shiretorova V. G., Erdyneeva S. A., Radnaeva L. D. Elemental composition of microstrobili and sprouts of <i>Pinus sylvestris</i> , <i>Pinus sibirica</i> and <i>Pinus pumila</i>	605

CHEMICAL TECHNOLOGY

Yakovlev N. S., Agaev S. G. Influence of physicochemical properties of depressor additives on their performance in diesel fuels.....	612
---	-----

BRIEF COMMUNICATION

Stolbikova A. V., Dudareva L. V., Rudikovskii A. V., Stavitskaya Z. O., Kopytina T. V., Rudikovskaya E. G. Characteristics of composition and content of auxins in tissues of Siberian apple tree <i>Malus baccata</i> L. Borkh.....	620
Okladnikova V. O., Ochirov O. S., Grigor'eva M. N., Stelmakh S. A. Polymer-polymer composition of polyvinyl alcohol and polyhexamethylene guanidine hydrochloride for antimicrobial surface protection	627
Lisanevich M. S., Perushkina E. V. Modification of nonwoven fabrics with chlorhexidine to impart antibacterial properties	633

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Научная статья

УДК 547.821+547.496.3+621.35

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-498-505>



Особенности конденсации 2-хлорпиридина с тиомочевинной. Строение образующихся продуктов и их влияние на свойства покрытий при электрохимическом никелировании

Валентина Александровна Грабельных*, Ирина Николаевна Богданова*,
Нина Геннадьевна Сосновская**, Наталия Владимировна Истомина**,
Наталия Владимировна Руссавская*, Евгений Владимирович Кондрашов*,
Роман Владимирович Бутрик**, Николай Алексеевич Корчевин***,
Игорь Борисович Розенцвейг*,***

*Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация

**Ангарский государственный технический университет, г. Ангарск, Российская Федерация

***Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Грабельных Валентина Александровна, venk@iriioch.irk.ru

Аннотация. Регулирование скорости подачи 2-хлорпиридина в раствор тиомочевинной в этиловом спирте для обеспечения низкой концентрации добавляемого реагента в зоне реакции позволило синтезировать и спектрально охарактеризовать 2-пиридилизотиуроний хлорид. По данным спектроскопии ЯМР (^1H , ^{13}C , ^{15}N) полученное соединение представляет собой примерно эквимолекулярную смесь 2-х таутомеров: ожидаемой изотиурониевой соли и хлорида пиридиния с изотиокарбамидным заместителем во 2-м положении. Возможность таутомерного перехода изотиурониевой соли в соль пиридиния определяется наличием 2-х основных центров: атомов азота изотиомочевинного фрагмента и атома азота пиридинового кольца. Квантово-химический анализ методом DFT показывает, что свободные энергии таутомеров оказались близки, при этом протонированный по имидному атому азота таутомер оказался на 2,9 ккал/моль (в газовой фазе) и на 4,7 ккал/моль (при учете растворителя ДМСО на уровне PCM) более выгодным в сравнении с пиридиновой солью. Небольшая разница в энергиях таутомеров определяет их образование примерно в эквимолекулярном количестве. При быстром прибавлении (5–10 мл/мин) 2-хлорпиридина к раствору тиомочевинной в зоне реакции создается избыток реагента, который, воздействуя как основание, провоцирует расщепление изотиурониевой соли, что приводит к дополнительному образованию в реакционной среде бис(2-пиридил)сульфида – ценного лиганда для получения координационных соединений. Синтезированная смесь таутомеров была исследована в качестве добавки в стандартный электролит никелирования. В концентрации 0,3–0,5 г/л добавка обеспечивала получение блестящих низкопористых никелевых покрытий при достаточно высокой плотности тока 5–10 А/дм² с выходом по току 98–99 %.

Ключевые слова: 2-хлорпиридин, изотиурониевая соль, таутомерия, квантово-химический расчет, бис(2-пиридил)сульфид, блестящее никелирование

Благодарности. Спектральные и аналитические данные были получены с использованием оборудования Байкальского аналитического центра коллективного пользования Иркутского института химии им. А. Е. Фаворского СО РАН.

Для цитирования: Грабельных В. А., Богданова И. Н., Сосновская Н. Г., Истомина Н. В., Руссавская Н. В., Кондрашов Е. В., Бутрик Р. В., Корчевин Н. А., Розенцвейг И. Б. Особенности конденсации 2-хлорпиридина с тиомочевинной. Строение образующихся продуктов и их влияние на свойства покрытий при электрохимическом никелировании // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 498–505. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-498-505>.

Characteristics of 2-chloropyridine and thiourea condensation. Structure of the as-formed products and their effect on coating properties during electrochemical nickel plating

Valentina A. Grabelnykh*, Irina N. Bogdanova*, Nina G. Sosnovskaya**, Natalia V. Istomina**, Natal'ya V. Russavskaya*, Evgenii V. Kondrashov*, Roman V. Butrik**, Nikolai A. Korchevin*, **, Igor B. Rozentsveig*, ***

*A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

**Angarsk State Technical University, Angarsk, Russian Federation

***Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

Corresponding author: Valentina A. Grabelnykh, venk@irioch.irk.ru

Abstract. The synthesis and spectral characterisation of 2-pyridylisothiuronium chloride were performed by regulating the rate of feeding 2-chloropyridine into a thiourea solution in ethyl alcohol for ensuring its low concentration in the reaction zone. According to the data of NMR spectroscopy (^1H , ^{13}C , ^{15}N), the obtained compound represents an approximately equimolar mixture of two tautomers: the expected isothiuronium salt and pyridinium chloride with an isothiocarbamide substituting group in the 2nd position. The ability of isothiuronium salt to transit tautomerically to pyridinium salt is determined by the presence of two main centres, including nitrogen atoms of the isothiurea unit and a nitrogen atom of the pyridine ring. A quantum chemical analysis performed using the DFT method showed that the free energy values of the tautomers were similar, with the tautomer protonated on the nitrogen imido-atom being 2.9 (in the gas phase) and 4.7 kcal/mole (taking into account the dimethyl sulphoxide solvent DMSO at the PCM level) more advantageous as compared to the pyridinium salt. A small difference in the tautomer energies determines their formation in an approximately equimolar quantity. A rapid addition (5–10 mL/min) of 2-chloropyridine to the thiourea solution in the reaction zone creates the surplus of the reagent, acting as a base and causing splitting of the isothiuronium salt. This leads to an additional formation of bis(2-pyridyl)sulphide in the reaction medium, representing a valuable ligand for obtaining coordination compounds. The synthesised mixture of tautomers was examined as an additive to the standard nickel-plating electrolyte. In the concentration of 0.3–0.5 g/L, this additive ensured the production of bright low-porous nickel coatings at a sufficiently high current density of 5–10 A/dm² and a current yield of 98–99 %.

Keywords: 2-chloropyridine, isothiuronium salt, tautomerism, quantum chemical calculation, bis(2-pyridyl) sulphide, bright nickel plating

Acknowledgements. Spectral and analytical data were obtained using the equipment of the Baikal Analytical Center for Collective Use of the A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS.

For citation: Grabelnykh V. A., Bogdanova I. N., Sosnovskaya N. G., Istomina N. V., Russavskaya N. V., Kondrashov E. V., Butrik R. V., Korchevin N. A., Rozentsveig I. B. Characteristics of 2-chloropyridine and thiourea condensation. Structure of the as-formed products and their effect on coating properties during electrochemical nickel plating. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):498-505. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-498-505>.

ВВЕДЕНИЕ

При конденсации органических галогенидов с тиомочевинной образуются изотиуруниевые соли, которые широко используются в органическом синтезе для получения тиолов [1] или сульфидов [2–4], а также в синтезе сульфанилпиримидинов [5]. Кроме того, некоторые изотиуруниевые соли применяются в аналитической химии [6] и в биохимических исследованиях [7, 8]. Среди изотиуруниевых солей обнаружены эффективные противораковые агенты [9]. Показано, что изотиуруниевые соли выступают в качестве эффективных ингибиторов коррозии [10, 11], а при добавлении

в электролит никелирования способствуют формированию на поверхности стальных деталей блестящих практически беспористых никелевых покрытий [12, 13].

Наличие пиридинового фрагмента в органической части изотиуруниевой соли, несомненно, может существенно увеличить практическую ценность соответствующих солей. Это касается не только биохимического применения солей изотиуруния, поскольку биологическая активность производных пиридина хорошо известна [14, 15], но и их использования в других направлениях, например, в качестве добавки в электролиты

никелирования. Пиридиновые соединения в этом направлении достаточно интенсивно изучаются (например, в работах [16, 17]).

Хотя сведения о получении пиридиновых изотиуриониевых солей встречаются в патентной литературе¹, спектральные и другие аналитические характеристики при этом не обсуждаются.

Целью предлагаемой работы является анализ особенности реакции 2-хлорпиридина с тиомочевинной, исследование строения с использованием спектральных методов и квантово-химических расчетов получаемых при этом продуктов и изучение возможности их применения в качестве добавки в электролит никелирования.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реакцию 2-хлорпиридина с тиомочевинной проводили в среде этанола, в котором предварительно при температуре 70 °С растворяли необходимое количество тиомочевины. При этой температуре в полученный раствор прикапывали 2-хлорпиридин. Реакционную смесь перемешивали 15 ч при кипении (~80 °С). Оказалось, что характер образующихся продуктов определяется скоростью добавления 2-хлорпиридина.

Получение таутомерной смеси 2-пиридилизотиурионий хлорида (1а) и хлорида 2-пиридинийизотиомочевины (1б). В 36 мл этанола растворяли 4,57 г (0,06 моль) тиомочевины. К полученному раствору в течение 1 ч добавляли по каплям 6,81 г (0,06 моль) 2-хлорпиридина. Скорость прикапывания – 0,1 мл/мин. После перемешивания кипящей реакционной смеси в течение 15 ч частично отгоняли этанол (~20 мл) в вакууме (70 мм рт. ст.), раствор охлаждали до 25 °С и остаток выливали в 200 мл диэтилового эфира. При стоянии в холодильнике (10 ч) выпадала желтая высоковязкая масса. Растворитель отделяли декантацией, остаток 5 раз промывали эфиром (50 мл), сушили в вакууме. Масса продукта – 11,4 г (100 %). Найдено, %: С 37,89; Н 4,41; S16,64; Cl 18,63; N22,10; C₆H₈SClN₃. Вычислено, %: С 38,00; Н 4,22; S16,89; Cl 18,73; N22,16.

Спектры ЯМР¹H, ¹³C и ¹⁵N (спектрометр Bruker DPX-400 (Bruker Corporation, США), рабочая частота 400,13; 100,62 и 40,6 МГц, растворитель ДМСО-d₆, внутренний стандарт (¹H, ¹³C) – ГМДС, внешний стандарт (¹⁵N)–NH₃ показывают наличие в продукте 2-х соединений – **1а** и **1б** в соотношении ~1:1. Спектр ЯМР¹H, δ, м.д.; узкие мультиплеты (первым приводится сигнал, отнесенный нами к соединению **1а**, вторым – сигнал, соответствующий резонансу протонов соединения **1б**: 8,55; 8,61 (Н 6); 7,53; 7,72 (Н 3); 7,40; 7,91 (Н 4, 5). Интенсивность сигналов соответствует количеству атомов водорода. Протонам при атомах азота соответствуют 3 уширенных сигнала: 9,66; 9,78; 9,30 м.д. Спектр ЯМР¹³C, δ, м.д.: 154,70; 170,33 (С 2); 150,83;

154,66 (С 6); 139,32; 149,36 (С 4); 126,62; 128,04; 123,18; 124,76 (С 3, 5); 167,30; 161,96 (SCN₂). В спектре ЯМР¹⁵N присутствуют 5 сигналов, δ, м.д.: 85,2; 78,0; 75,8; 70,2; 64,7, которые соответствуют пяти разновидностям атомов азота (NH₂ в соединении **1а**, N⁺–Н в пиридине, N в пиридине, NH₂ в соединении **1б**, =NH в соединении **1б**), однако конкретно разнести сигналы не представилось возможным.

Бис(2-пиридил)сульфид (**2**) образуется наряду с соединениями **1а** и **1б** при быстром прибавлении 2-хлорпиридина к раствору тиомочевины, причем выход сульфида **2** зависит от скорости добавления. При добавлении 2-хлорпиридина со скоростью 10 мл/мин продукт **2** переходил в эфирный экстракт. Из остатка после удаления эфира очищен колоночной хроматографией на силикагеле (элюент хлороформ), выход 12 %. Спектр ЯМР¹H (CDCl₃), δ, м.д.: 8,49 (Н 6); 7,57 (Н 4); 7,39 (Н 3); 7,11 (Н 5). ЯМР¹³C, δ, м.д.: 156,62 (С 2); 149,93 (С 6); 136,84 (С 3); 125,65 (С 4); 121,54 (С 5). Масс-спектр (прибор Shimadzu GCMS-QP5050A (Shimadzu, Япония), хроматографическая колонка SPB-5, 60000x0,25 мм (Agilent Technologies, США), электронная ионизация, 70 эВ), приводятся m/z, характеристика иона, интенсивность, %, от максимального пика: 189 (M+H)⁺ 20, 188 M⁺ 50, 187 (M-H)⁺ 100, 78 (C₅H₄N)⁺ 40, 51 (C₄H₃)⁺ 50, 39 (C₃H₂)⁺ 25. Спектр ЯМР¹H соответствует данным работы [18].

Квантово-химические расчеты выполнены в программе Gaussian 09² методом B3LYP в базисе 6–311+G** в газовой фазе и в растворителе ДМСО. Учет растворителя проводился в приближении модели поляризационного континуума (PCM). Проведена полная оптимизация геометрии в указанных методе и базисе, и выполнен расчет колебательных частот.

Блескообразующий эффект смеси таутомеров **1а** и **1б** был исследован на установке никелирования, включающей источник постоянного тока, электроизмерительные приборы, электролизер и медный кулонометр. В качестве образцов для нанесения покрытия использованы стальные пластинки (площадь 3,66 см²). Состав электролита: 270–300 г/л NiSO₄ 7H₂O, 12 г/л NaCl, 40 г/л H₃BO₃. Перед нанесением покрытия в электролит вводили добавку смеси (**1а**+**1б**) в количестве 0,3–0,5 г/л. Электролиз проводили при температуре 50 °С и pH 4,9–5,1 (рН-метр pH-410, корректировка pH добавлением HCl или карбоната никеля). Качество покрытия (блеск, наличие питтингов, гладкость поверхности) оценивали визуально. Количественно блеск определяли на фотоэлектрическом блескомере БФ5–45/0/45 (ООО «Неразрушающий контроль», Россия) по методике, представленной в работе [13]. Методика определения пористости покрытия

¹ Китайский патент CN 103102301B (2013).

² Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., et al. Fox Gaussian 09, Revision C.01. Inc., Wallingford CT, 2009.

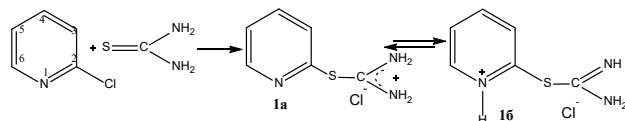
Использование смеси таутомеров (**1a**+**16**) при электрохимическом никелировании
 Tautomers (**1a**+**16**) mixture applying during electrochemical nickel plating

Концентрация добавки, г/л	Плотность тока, А/дм ²	Выход по току, %	Блеск, %	Пористость, пор/см ²	Примечание
0,30	5	98	105	3	Блеск по всей поверхности, единичные питтинги
0,35	5	99	107	5	Небольшие матовые участки
0,40	15	98	123	3	Блеск по всей поверхности, единичные питтинги
0,42	5	99	121	3	Блеск по всей поверхности, видимых дефектов нет
0,42	10	98	92	4	Блеск по всей поверхности, единичные питтинги
0,50	10	99	140	2	Блеск по всей поверхности, видимых дефектов нет

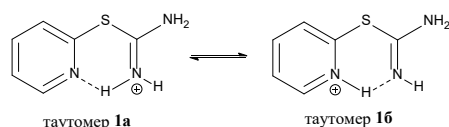
приведена там же [13]. Результаты блескообразующего действия добавки продемонстрированы в таблице.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При медленном добавлении 2-хлорпиридина к раствору тиомочевины с количественным выходом образуется маслообразный продукт, который по данным спектроскопии ЯМР (¹H, ¹³C, ¹⁵N) представляет собой смесь таутомеров **1a** и **16**. Соотношение таутомеров **1a**:**16** ~ 1:1 (с небольшим преобладанием **1a**), оно не изменяется при хранении.

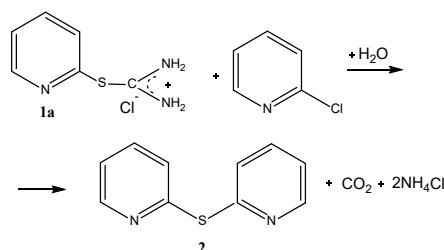


Квантово-химические расчеты изомеров изотиуриониевой соли, протонированных по разным атомам азота (пиридиновому либо имидному), показали, что таутомер **1a** оказался всего на 2,9 ккал/моль (газовая фаза) более выгодным в сравнении с таутомером **16**. Учет растворителя (ДМСО) в приближении метода поляризованного континуума (PCM) привел к несколько большей разнице свободных энергий изомеров – 4,7 ккал/моль. Интересно отметить, что таутомеры изотиуриониевой соли существуют только в таких конформациях, в которых атом водорода протонированной группы NH всегда имеет внутримолекулярную водородную связь с основным атомом азота той же молекулы.



При быстром прибавлении 2-хлорпиридина в зоне реакции образуется повышенная концентрация этого соединения. Хлорпиридин, подобно самому пиридину, обладает основными свойствами. Действие оснований на изотиуриониевые соли приводит к их расщеплению с образованием тиолят-анионов. Именно эта реакция служит

основой для получения тиолов и сульфидов [1–5]. Известно использование органических аминов в качестве оснований для расщепления изотиуриониевых солей [19]. Такое расщепление может наблюдаться и при действии 2-хлорпиридина на изотиуриониевую соль **1a**.



Выход сульфида **2** (на взятый хлорпиридин) определяется скоростью прибавления 2-хлорпиридина к реакционной смеси. Использование избытка (1,5 по отношению к тиомочевине) 2-хлорпиридина и быстрое его прибавление в зону реакции позволило получить сульфид **2** с выходом 58 %, однако при этом в реакционной смеси (после 15 ч) остается непрореагировавший 2-хлорпиридин (~8 %).

Бис(2-пиридил)сульфид **2** является ценным органическим лигандом, используемым для получения комплексов металлов [20]. Обычно его синтезируют реакцией 2-бромпиридина с труднодоступным 2-меркаптопиридином (выход 72 %) [18] или реакцией 2-бромпиридина с тиомочевинной в этаноле (кипение 60 ч) с последующим хроматографическим выделением (выход 80 %) [20]. Использование для этого синтеза более доступного 2-хлорпиридина является более привлекательным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При медленном введении 2-хлорпиридина в этанольный раствор тиомочевины образуется продукт конденсации, который представляет собой смесь 2-х таутомеров: 2-пиридилизотиурионий хлорид и хлорид пиридиния с изотиокарбамидным заместителем в примерном соотношении 1:1. Квантово-химические расчеты показывают достаточно близкую энергию таутомеров как

в газовой фазе, так и в среде ДМСО. Структура таутомеров подтверждена методами ЯМР-спектроскопии. Быстрое прибавление 2-хлорпиридина к раствору тиомочевины позволяет получить с выходом 58% бис(2-пиридил)сульфид – ценный лиганд для формирования практически зна-

чимых координационных соединений переходных металлов.

Смесь таутомеров исследована в качестве добавки в электролит никелирования, что позволило получить блестящие беспористые никелевые покрытия.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Альфонсов В. А., Беленький Л. И., Владова Н. Н. Получение и свойства органических соединений серы. М.: Химия, 1998. 560 с.
2. Luzzio F. A. Decomposition of S-alkylisothiuronium salts under anhydrous conditions-application to a facile preparation of nonsymmetrical dialkyl sulfides // *Synthetic Communications*. 1984. Vol. 14. N 3. P. 209–214. <https://doi.org/10.1080/00397918408060723>.
3. Леванова Е. П., Вахрина В. С., Грабельных В. А., Розенцвейг И. Б., Руссавская Н. В., Албанов А. И. [и др.]. Особенности синтеза ненасыщенных сульфидов на основе (2-хлорпроп-2-ен-1-ил)изотиуроний хлорида // *Журнал органической химии*. 2015. Т. 51. N 2. С. 175–180. <https://doi.org/10.1134/S1070428015020037>.
4. Коваль И. В. Сульфиды: синтез и свойства // *Успехи химии*. 1994. Т. 63. N 4. С. 338–360.
5. Леванова Е. П., Грабельных В. А., Вахрина В. С., Руссавская Н. В., Албанов А. И., Корчевин Н. А. [и др.]. Синтез новых 2-(алкенилсульфанил)-пиримидина // *Журнал органической химии*. 2014. Т. 50. N 3. С. 440–444. <https://doi.org/10.1134/S1070428014030221>.
6. Kubo Y., Ishihara S., Tsukahara M., Tokito S. Isothiuronim-derived simple fluorescent chemosensors of anions // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 2002. N 8. P. 1455–1460. <https://doi.org/10.1039/B202953G>.
7. Allan R. D., Dickenson H. W., Hierin B. P., Johnston G. A., Kozlauskas R. Isothiuronium compounds as γ -aminobutyric acid agonists // *British Journal of Pharmacology*. 1986. Vol. 88, no. 2. P. 379–387. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1986.tb10214.x>.
8. Hoving S., Bar-Shimon M., Tijmes J. J., Goldshleger R., Tal D. M., Karlish S. J. D. Novel aromatic isothiuronium derivatives which act as high affinity competitive antagonists of alkali metal cations on Na/K-ATPase // *Journal of Biological Chemistry*. 1995. Vol. 270, no. 50. P. 29788–29793. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.50.29788>.
9. Ferreira M., Assunçãob L. S., Silva A. H., Filippin-Monteiro F. B., Creczynski-Pasa T. B., Sáa M. M. Allylic isothiuronium salts: the discovery of a novel class of thiourea analogues with antitumor activity // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017. Vol. 129. P. 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.02.013>.
10. Quraishi M. A., Ansari F. A., Jamal D. Thiourea derivatives as corrosion inhibitors for mild steel in formic acid // *Materials Chemistry and Physics*. 2003. Vol. 77, no. 3. P. 687–690. [https://doi.org/10.1016/S0254-0584\(02\)00130-X](https://doi.org/10.1016/S0254-0584(02)00130-X).
11. Ушаков И. А., Никонова В. С., Польшинский И. В., Князева Л. Г., Польшинская М. М., Анциферов Е. А. Исследование эффективности ингибиторов коррозии на основе производных изотиурониевых солей // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2021. Т. 11. N 2. С. 326–332. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-2-326-332>.
12. Иванова А. О., Сосновская Н. Г., Никонова В. С., Леванова Е. П., Попов С. И. Использование добавок изотиурониевых солей в технологии блестящего никелирования // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2017. Т. 7. N 4. С. 136–141. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-4-136-141>.
13. Сосновская Н. Г., Истомина Н. В., Синеговская Л. М., Розенцвейг И. Б., Корчевин Н. А. Электроосаждение блестящих никелевых покрытий из сульфатного электролита в присутствии изотиурониевых солей // *Гальванотехника и обработка поверхности*. 2019. Т. 27. N 4. С. 4–11. https://doi.org/10.47188/0869-5326_2019_27_4_4.
14. Lukevits É. Pyridine derivatives in the drug arsenal (150 years of pyridine chemistry) // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 1995. Vol. 31. P. 639–650. <https://doi.org/10.1007/BF01169065>.
15. Abbas H.-A. S., El Sayed W. A., Fathy N. M. Synthesis and antitumor activity of new dihydropyridine thioglycosides and their corresponding dehydrogenated forms // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010. Vol. 45, no. 3. P. 973–982. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.11.039>.
16. Шептица Б. Влияние органических соединений на электрокристаллизацию никеля // *Электрохимия*. 2001. Т. 37. N 7. С. 805–810.
17. Sezer E., Ustamehmetoglu B., Katirci R. Effects of a N, N-dimethyl-N-2-propenyl-2-propene-1-ammonium chloride-2-propenamide copolymer on bright nickel plating // *Surface and Coatings Technology*. 2012. Vol. 213. P. 253–263. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2012.10.057>.
18. Chachaty C., Pappalardo G. C., Scarlata G. Molecular conformation of di-2-pyridyl sulphide. A dipole moment, ^1H nuclear magnetic resonance, and CNDO/2 study // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 1976. No. 11. P. 2434. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/1976/p2/p29760001234>.
19. Cossar B. C., Fournier J. O., Fields D. L., Reynolds D. D. Preparation of thiols // *Journal of Organic Chemistry*. 1962. Vol. 27, no. 1. P. 93–95. <https://doi.org/10.1021/jo01048a024>.
20. Brown C. M., Kitt M. J., Xu Z., Hean D., Ezhova M. B., Wolf M. O. Tunable emission of Iridium(III) complexes bearing sulfur-bridged dipyrityl ligands // *Inorganic Chemistry*. 2017. Vol. 56, no. 24. P. 15110–15118. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.inorgchem.7b02439>.

REFERENCES

1. Al'fonsov V. A., Belen'kii L. I., Vlasova N. N. *Preparation and properties of organic sulfur compounds*. Moscow: Khimiya, 1998. 560 p. (In Russian).
2. Luzzio F. A. Decomposition of S-alkylisothiuronium salts under anhydrous conditions-application to a facile preparation of nonsymmetrical dialkyl sulfides. *Synthetic Communications*. 1984;14(3):209-214. <https://doi.org/10.1080/00397918408060723>.
3. Levanova E. P., Vakhrina V. S., Grabelnykh V. A., Rozentsveig I. B., Russavskaya N. V., Albanov A. I., et al. Features of the synthesis of unsaturated sulfides proceeding from (2-chloroprop-2-en-1-yl)isothiuronium chloride. *Zhurnal organicheskoi khimii = Russian Journal of Organic Chemistry*. 2015;51(2):175-180. (In Russian).
4. Koval' I. V. Sulfides: synthesis and properties. *Uspekhi khimii*. 1994;63(4):338-360. (In Russian).
5. Levanova E. P., Grabel'nykh V. A., Vakhrina V. S., Russavskaya N. V., Albanov A. I., Korchevin N. A., et al. Synthesis of new 2-(alkenylsulfanyl)pyrimidine derivatives. *Zhurnal organicheskoi khimii = Russian Journal of Organic Chemistry*. 2014;50(3):440-444. (In Russian). <https://doi.org/10.1134/S1070428014030221>.
6. Kubo Y., Ishihara S., Tsukahara M., Tokito S. Isothiuronim-derived simple fluorescent chemosensors of anions. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 2002;(8):1455-1460. <https://doi.org/10.1039/B202953G>.
7. Allan R. D., Dickenson H. W., Hierin B. P., Johnston G. A., Kozlauskas R. Isothiuronium compounds as γ -aminobutyric acid agonists. *British Journal of Pharmacology*. 1986;88(2):379-387. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1986.tb10214.x>.
8. Hoving S., Bar-Shimon M., Tijmes J. J., Goldshleger R., Tal D. M., Karlisch S. J. D. Novel aromatic isothiuronium derivatives which act as high affinity competitive antagonists of alkali metal cations on Na/K-ATPase. *Journal of Biological Chemistry*. 1995;270(50):29788-29793. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.50.29788>.
9. Ferreira M., Assunçãob L. S., Silva A. H., Filippin-Monteiro F. B., Creczynski-Pasa T. B., Sáa M. M. Allylic isothiuronium salts: the discovery of a novel class of thiourea analogues with antitumor activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;129:151-158. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.02.013>.
10. Quraishi M. A., Ansari F. A., Jamal D. Thiourea derivatives as corrosion inhibitors for mild steel in formic acid. *Materials Chemistry and Physics*. 2003;77(3):687-690. [https://doi.org/10.1016/S0254-0584\(02\)00130-X](https://doi.org/10.1016/S0254-0584(02)00130-X).
11. Ushakov I. A., Nikonova V. S., Polynskii I. V., Knyazeva L. G., Polynskaya M. M., Antsiferov E. A. Study on efficiency of corrosion inhibitors based on derivatives of isothiuronium salts. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021;11(2):326-332. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-2-326-332>.
12. Ivanova A. O., Sosnovskaya N. G., Nikonova V. S., Levanova E. P., Popov S. I. The use of isothiuronium salts as brightening additives in the technology of bright nickel electrochemical plating. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2017;7(4):136-141. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-4-136-141>.
13. Sosnovskaya N. G., Istomina N. V., Sinegovskaya L. M., Rosenzweig I. B., Korchevin N. A. Electrodeposition of bright nickel coatings from sulfate electrolyte in the presence of isothiuronium salts. *Gal'vanotekhnika i obrabotka poverhnosti = Electroplating & Surface Treatment*. 2019;27(4):4-11. (In Russian). https://doi.org/10.47188/0869-5326_2019_27_4_4.
14. Lukevits É. Pyridine derivatives in the drug arsenal (150 years of pyridine chemistry). *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 1995;31:639-650. <https://doi.org/10.1007/BF01169065>.
15. Abbas H.-A. S., El Sayed W. A., Fathy N. M. Synthesis and antitumor activity of new dihydropyridine thioglycosides and their corresponding dehydrogenated forms. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010;45(3):973-982. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.11.039>.
16. Szeptycka B. Effects of organic compounds on the electrocrystallization of nickel. *Elektrokhimiya*. 2001;37(7):805-810. (In Russian).
17. Sezer E., Ustamehmetoglu B., Katirci R. Effects of a N, N-dimethyl-N-2-propenyl-2-propene-1-ammonium chloride-2-propenamide copolymer on bright nickel plating. *Surface and Coatings Technology*. 2012;213:253-263. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2012.10.057>.
18. Chachaty C., Pappalardo G. C., Scarlata G. Molecular conformation of di-2-pyridyl sulphide. A dipole moment, ^1H nuclear magnetic resonance, and CNDO/2 study. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 1976;11:2434. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/1976/p2/p29760001234>.
19. Cossar B. C., Fournier J. O., Fields D. L., Reynolds D. D. Preparation of thiols. *Journal of Organic Chemistry*. 1962;27(1):93-95. <https://doi.org/10.1021/jo01048a024>.
20. Brown C. M., Kitt M. J., Xu Z., Hean D., Ezhova M. B., Wolf M. O. Tunable emission of Iridium(III) complexes bearing sulfur-bridged dipyrindyl ligands. *Inorganic Chemistry*. 2017;56(24):15110-15118. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.inorgchem.7b02439>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. А. Грабельных,
к.х.н., научный сотрудник,
Иркутский институт химии
им. А. Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Valentina A. Grabel'nykh,
Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,

Российская Федерация,
venk@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1067-7755>

И. Н. Богданова,
аспирант,
Иркутский институт химии
им. А. Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
venk@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4826-676X>

Н. Г. Сосновская,
к.т.н., доцент, заведующая кафедрой
технологии электрохимических производств,
Ангарский государственный технический
университет,
665835, г. Ангарск, ул. Чайковского, 60,
Российская Федерация,
sosnina148@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8815-9280>

Н. В. Истомина,
проректор по учебной работе,
Ангарский государственный технический
университет,
665835, г. Ангарск, ул. Чайковского, 60,
Российская Федерация,
prorector@angtu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5266-1527>

Н. В. Руссавская,
д.х.н., профессор,
Иркутский институт химии
им. А. Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
rusnatali64@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9231-6269>

Е. В. Кондрашов,
к.х.н., старший научный сотрудник,
Иркутский институт химии
им. А. Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
evgeny_irich@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0599-1128>

Р. В. Бутрик,
аспирант,
Ангарский государственный технический
университет,
665835, г. Ангарск, ул. Чайковского, 60,
Российская Федерация,
sosnina148@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3542-7525>

Н. А. Корчевин,
д.х.н., ведущий научный сотрудник,
Иркутский институт химии
им. А. Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,

Russian Federation,
venk@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1067-7755>

Irina N. Bogdanova,
Postgraduate Student,
A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
venk@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4826-676X>

Nina G. Sosnovskaya,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Head of the Electrochemical Production
Technology Department,
Angarsk State Technical University,
60, Chaikovsky St., 665835, Angarsk,
Russian Federation,
sosnina148@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8815-9280>

Natalia V. Istomina,
Vice-rector for Academic Affairs,
Angarsk State Technical University,
60, Chaikovsky St., 665835, Angarsk,
Russian Federation,
prorector@angtu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5266-1527>

Natal'ya V. Russavskaya,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
rusnatali64@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9231-6269>

Evgenii V. Kondrashov,
Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
evgeny_irich@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0599-1128>

Roman V. Butrik,
Postgraduate Student,
Angarsk State Technical University,
60, Chaikovsky St., 665835, Angarsk,
Russian Federation,
sosnina148@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3542-7525>

Nikolai A. Korchevin,
Dr. Sci. (Chemistry), Leading Researcher,
A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,

Российская Федерация;
д.х.н., профессор,
Ангарский государственный технический
университет,
665835, г. Ангарск, ул. Чайковского, 60,
Российская Федерация,
venk@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5729-9050>

И. Б. Розенцвейг,
д.х.н., доцент, заведующий лабораторией
галогенорганических соединений,
заместитель директора по научной работе,
Иркутский институт химии
им. А. Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация;
д.х.н., профессор,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
i_roz@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7817-7816>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 31.05.2022.
Одобрена после рецензирования 23.10.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.*

Russian Federation;
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Angarsk State Technical University,
60, Chaikovsky St., 665835, Angarsk,
Russian Federation,
venk@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5729-9050>

Igor B. Rozentsveig,
Dr. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Head of the Laboratory of Organohalogen
Compounds, Deputy Director for Research,
A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
SB RAS,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation;
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., 664033, Irkutsk,
Russian Federation,
i_roz@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7817-7816>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.*

Information about the article

*The article was submitted 31.05.2022.
Approved after reviewing 23.10.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.*

Научная статья

УДК 543.05:628.31

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-506-513>



Получение адсорбентов из подсолнечной лузги для удаления хрома (VI) из сточных вод

Алексей Анатольевич Федотов, Елена Юрьевна Руденко

Самарский государственный технический университет,

г. Самара, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Руденко Елена Юрьевна, e_rudenko@rambler.ru

Аннотация. В последнее время в качестве сорбционных материалов для очистки воды от загрязняющих веществ часто используют отходы промышленного и сельскохозяйственного производства. Адсорбенты получали из подсолнечной лузги для очистки сточных вод от ионов хрома (VI). Исследования проводили на немодифицированной и модифицированной подсолнечной лузге и модельном растворе сточных вод, содержащем 10 мг/дм³ ионов хрома (VI). Для модификации подсолнечной лузги использовали растворы кислот (H_2SO_4 , HNO_3 , HCl , H_3PO_4) и щелочей (KOH , $NaOH$). Максимальную сорбционную емкость выявили у подсолнечной лузги, обработанной серной кислотой, поэтому в дальнейших опытах использовали только этот модифицирующий агент. Модификацию проводили 1–4 М растворами H_2SO_4 при температурах 30–75 °С в течение 30–120 мин. Результаты проведенных исследований показали, что кислотная модификация подсолнечной лузги более эффективна, чем ее обработка щелочами. До достижения 3 М концентрации серной кислоты сорбционная емкость модифицированной ей подсолнечной лузги увеличивается, а затем начинает снижаться. Был построен 3-уровневый полный факторный план эксперимента, который позволил определить, что максимальная сорбционная емкость подсолнечной лузги достигается при ее модификации серной кислотой, имеющей концентрацию, равную 2,5 М, и температуру 60 °С. Проведенные исследования показали, что адсорбенты, полученные из подсолнечной лузги, можно использовать для удаления ионов хрома (VI) из сточных вод. Наиболее оптимальной и эффективной является методика модификации, при которой подсолнечную лузгу обрабатывают 2,5 М раствором серной кислоты при температуре 60 °С в течение 30 мин, промывают дистиллированной водой и высушивают при температуре 105 °С до постоянной массы.

Ключевые слова: сточная вода, удаление, тяжелые металлы, хром (VI), сорбционная емкость, подсолнечная лузга

Для цитирования: Федотов А. А., Руденко Е. Ю. Получение адсорбентов из подсолнечной лузги для удаления хрома (VI) из сточных вод // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 506–513. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-506-513>.

CHEMICAL SCIENCES

Original article

Production of adsorbents based on sunflower husks for removal of chromium (VI) from wastewater

Aleksey A. Fedotov, Elena Yu. Rudenko

Samara State Technical University, Samara, Russian Federation

Corresponding author: Elena Yu. Rudenko, e_rudenko@rambler.ru

Abstract. At present, industrial and agricultural waste is often used as sorption materials for water remediation. Adsorbents obtained from sunflower husks were used for wastewater treatment from chromium (VI) ions. Studies were carried out using unmodified and modified sunflower husk and a model wastewater solution containing 10 mg/dm³ of chromium (VI) ions. Solutions of acids (H_2SO_4 , HNO_3 , HCl , H_3PO_4) and alkalis (KOH , $NaOH$) were used to modify sunflower husks. The maximum sorption capacity was revealed in sunflower husks treated with sulfuric acid; thus, this modifying agent only was used in further experiments. The modification was carried out using 1–4 M solutions of H_2SO_4 at 30–75 °C for 30–120 min. The research results showed that the acid treatment of sunflower husks is more effective than that using alkalis. The sorption capacity of the modified sunflower husk increased up to the concentration of sulfuric acid of 3 M, followed by a further decrease. A full factorial design having 3 factors of the experiment was set, which allowed the maximum sorption capacity to be identified. The optimal modification procedure was as follows: sunflower husks are

treated using 2.5 M sulfuric acid solution at 60 °C for 30 min, washed with distilled water and dried at 105 °C to a constant weight. Studies showed that adsorbents obtained from sunflower husks can be used to remove chromium (VI) ions from wastewater.

Keywords: wastewater, removal, heavy metals, chromium (VI), sorption capacity, sunflower husk

For citation: Fedotov A. A., Rudenko E. Yu. Production of adsorbents based on sunflower husks for removal of chromium (VI) from wastewater. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):506-513. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-506-513>.

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение воды тяжелыми металлами представляет серьезную угрозу как для здоровья человека, так и для окружающей среды. Большинство тяжелых металлов являются чрезвычайно токсичными и наносят серьезный вред всем формам жизни, в том числе людям, при превышении допустимого уровня их содержания в различных оболочках биосферы. Тяжелые металлы также не поддаются биологическому разложению и имеют тенденцию накапливаться в живых организмах. В связи с быстрым развитием цивилизации в течение последнего столетия повышенные количества тяжелых металлов регулярно попадают в поверхностные и грунтовые воды через сбросы сточных вод промышленных предприятий [1, 2].

Хром (особенно 6-валентный) является одним из наиболее токсичных загрязнителей подземных и сточных вод. У человека Cr (VI) вызывает ряд заболеваний, таких как аллергический дерматит, повреждение печени, застой в легких, диарею, тошноту и рвоту или изъязвления [3, 4]. Загрязнение гидросферы хромом (VI) в основном происходит из сточных вод гальванического, кожевенного, красильных, текстильных и других производств, использующих Cr (VI) [4].

Большинство распространенных методов удаления тяжелых металлов из водных растворов имеют многочисленные недостатки, среди которых низкая эффективность и высокая стоимость [5]. Адсорбция является одним из наиболее широко используемых и эффективных, удобных и недорогих методов очистки сточных вод с целью удаления из них широкого спектра загрязняющих веществ, в том числе ионов тяжелых металлов [6–10].

В последнее время интенсивно развивается новое направление в практике очистки воды от различных загрязняющих веществ – использование в качестве сорбционных материалов отходов промышленного и сельскохозяйственного производства. Отходы переработки сельскохозяйственного сырья имеют ежегодно возобновляемую базу, они дешевы, нетоксичны и экологически безопасны, практически повсеместно доступны для использования, обладают удовлетворительными сорбционными показателями по отношению к различным загрязнителям природных и сточных вод [9, 11], но часто их утилизация является серьезной проблемой для производителей и переработчиков сельскохозяйственной продукции [11].

Подсолнечник – один из самых распространенных масличных культур в мире [12]. Лидерами по производству подсолнечного масла являются Рос-

сийская Федерация, Украина, Евросоюз, Аргентина и Турция. Из-за постоянного роста населения планеты неуклонно увеличивается спрос на семена подсолнечника, подсолнечное масло и побочные продукты переработки подсолнечника. Подсолнечная лузга образуется при производстве пищевого масла, и ее утилизация является важной экологической проблемой [9]. Большую часть образующейся подсолнечной лузги применяют для производства энергии путем сжигания [13], что может создать проблемы ее переработки и увеличить загрязнение атмосферы [14], а также для получения биоэтанола и биодизеля, которые используют в качестве альтернативных видов топлива [13]. Развивается новое направление утилизации подсолнечной лузги – применение ее в качестве адсорбента для извлечения различных поллютантов из сточных и природных вод [13–15]. Достоинствами подсолнечной лузги как исходного материала для производства адсорбентов для очистки воды являются ее доступность в течение всего года, разнообразная химическая гетерогенность входящих в ее состав лигнина и целлюлозы, а также наличие различных кислородсодержащих функциональных групп, таких как гидроксильные и карбоксильные группы [9]. Недостатками подсолнечной лузги являются большой удельный объем и способность к самовозгоранию [16].

Для очистки воды лузгу используют в нативном и модифицированном виде [17, 18], также применяют биоугли, полученные из подсолнечной лузги [4, 7, 10, 13–15, 19, 20]. Применение подсолнечной лузги для очистки воды может улучшить экологическое состояние гидросферы и способствовать решению проблемы утилизации отходов производства растительных масел [11].

Цель исследования – получение адсорбентов из подсолнечной лузги для очистки сточных вод от ионов хрома (VI).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследований являлась подсолнечная лузга, полученная в ЗАО «Самараагропром-переработка» и высушенная в сушильном шкафу ПЭ-4610 (Экоприбор, Россия) при температуре 105 °C до постоянной массы. Модельный раствор сточных вод, содержащий ионы хрома (VI), приготовлен путем растворения заданной массы бихромата калия ($K_2Cr_2O_7$) в дистиллированной воде, чтобы достичь концентрации ионов хрома (VI), равной 10 мг/дм³.

Для улучшения сорбционных свойств был проведен ряд модификаций подсолнечной лузги. Для выбора наиболее эффективного реагента-модификатора к навескам подсолнечной лузги массами

по 10 г каждая приливали по 200 см³ 1 М растворов кислот (H₂SO₄, HNO₃, HCl, H₃PO₄) и щелочей (KOH, NaOH) и перемешивали. Для исследования влияния концентрации реагента на сорбционные свойства к навескам подсолнечной лузги массами по 10 г каждая приливали по 200 см³ 2 М, 3 М, 4 М растворов H₂SO₄ и перемешивали. Процесс модификации проводили в термостате при температуре 30 °С в течение 30 мин. Для определения влияния температуры модификации на сорбционные свойства к навескам подсолнечной лузги массой по 10 г каждая приливали по 200 см³ 1 М раствора H₂SO₄ и перемешивали. Модификацию проводили в термостатах при температурах 30, 45, 60 и 75 °С в течение 30 мин. Для изучения влияния продолжительности воздействия реагента на сорбционные свойства навески подсолнечной лузги массами по 10 г каждая заливали 1 М раствором H₂SO₄ объемом 200 см³ и перемешивали. Процесс обработки проводили в термостате при температуре 30 °С в течение 30, 60, 90 и 120 мин.

Для оптимизации методики получения сорбента из модифицированной подсолнечной лузги для очистки сточных вод от хрома (VI) использовали систему статистического анализа Statistica 10.0, в которой для построения 3-уровневого полного факторного плана потребовалось проведение дополнительных опытов. При постановке дополнительных опытов к 2-м навескам подсолнечной лузги массами по 10 г каждая приливали по 200 см³ 2 М раствора H₂SO₄. Один процесс модификации проводили в термостате при температуре 45 °С, а другой – при температуре 60 °С в течение 30 мин. Еще к 2-м навескам подсолнечной лузги массами по 10 г каждая приливали по 200 см³ 3 М раствора H₂SO₄. Один процесс модификации проводили в термостате при температуре 45 °С, а другой – при температуре 60 °С в течение 30 мин.

Модифицированную лузгу отфильтровывали через марлю и 3 раза промывали дистиллированной водой объемом 200 см³. Модифицированную лузгу высушивали в сушильном шкафу ПЭ-4610 (Экоприбор, Россия) при температуре 105 °С до постоянной массы и использовали для проведения опытов по очистке модельного раствора сточных вод.

Для изучения сорбирующих свойств к навескам немодифицированной (контроль) и модифицированной подсолнечной лузги массами по 1 г каждая приливали по 200 см³ модельного раствора сточных вод, содержащего 10 мг/дм³ ионов хрома (VI). Колбы плотно закрывали пробками и энергично встряхивали в течение 2 ч на орбитальном шейкере-инкубаторе ES 20/60 (Biosan, Латвия) с частотой вращения 150 оборотов в минуту при комнатной температуре. Сорбенты удаляли фильтрацией через фильтровальную бумагу «красная лента». В фильтратах определяли остаточные концентрации ионов хрома фотометрическим методом с дифенилкарбазидом¹.

Сорбционную емкость подсолнечной лузги рассчитывали по формуле²:

$$A_r = \frac{(C_0 - C_r) \cdot V}{m \cdot 1000}, \text{ мг/г,}$$

где C₀ – начальная концентрация ионов хрома (VI) в модельном растворе сточных вод, мг/дм³; C_r – концентрация ионов хрома (VI) в модельном растворе сточных вод в определенный момент времени, мг/дм³; V – объем модельного раствора сточных вод, используемый для проведения исследований, см³; m – масса сорбционного материала, используемая для очистки модельного раствора сточных вод, г; 1000 – коэффициент пересчета см³ в дм³.

Эксперименты проводили в 3-кратной повторности. Математическую обработку результатов осуществляли с применением программы Statistica 10.0.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты проведенных исследований показали, что модификация подсолнечной лузги растворами гидроксидов калия и натрия снижает адсорбционные свойства подсолнечной лузги до такой степени, что полученные адсорбенты полностью теряют способность адсорбировать ионы хрома (VI). Вероятно, это связано с тем, что гидроксиды калия и натрия откладываются на волокнах лигнина и целлюлозы, входящих в состав подсолнечной лузги, и таким образом блокируют центры связывания ими ионов хрома (VI).

Кислотная модификация подсолнечной лузги более эффективна, чем обработка щелочами. Самую высокую сорбционную емкость в отношении ионов хрома (VI) имеет подсолнечная лузга, обработанная 1 М раствором серной кислоты, а наименьшую – лузга, модифицированная 1 М раствором фосфорной кислоты (рис. 1).

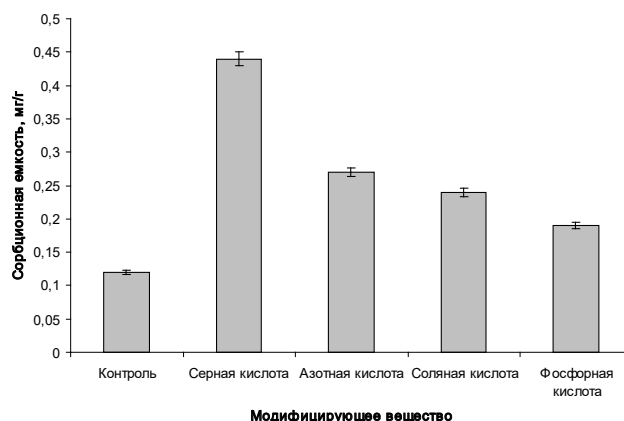


Рис. 1. Зависимость сорбционной емкости подсолнечной лузги от вещества, применяемого для ее модификации

Fig. 1. Effect of modifier on sorption capacity of sunflower seed husk

¹ ПНДФ 14.1:2:4.52-96. Количественный химический анализ вод. Методика измерений массовой концентрации ионов хрома в питьевых, поверхностных и сточных водах фотометрическим методом с дифенилкарбазидом. М., 2016. 22 с.

² Фролов Ю. Г. Курс коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы. М.: Химия, 1988. 464 с.

В связи с тем, что максимально сорбционную емкость к ионам хрома (VI) увеличила обработка подсолнечной лузги серной кислотой, в дальнейших опытах в роли модифицирующего реагента была использована только серная кислота.

С увеличением концентрации серной кислоты сорбционная емкость модифицированной ей подсолнечной лузги увеличивается до достижения кислотой 3 М концентрации, а затем начинает снижаться (рис. 2). Вероятно, это связано с тем, что слишком высокая концентрация серной кислоты нарушает пористую структуру лузги, разъедая стенки пор, в результате чего лузга начинает терять возможность удерживать ионы хрома. Данные литературы свидетельствуют о том, что при возрастании концентрации кислоты, используемой для обработки растительного материала, благодаря образованию и расширению пор, а также более неоднородному распределению их по размерам увеличиваются удельная поверхность и сорбционная емкость получающихся адсорбентов [21–24].

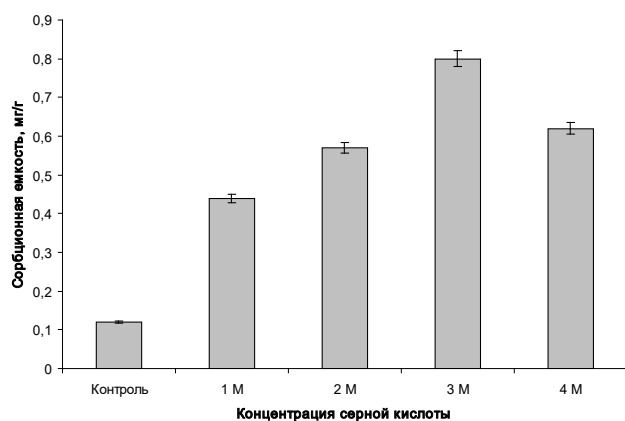


Рис. 2. Зависимость сорбционной емкости подсолнечной лузги от концентрации серной кислоты, применяемой для ее модификации

Fig. 2. Relationship between sorption capacity of sunflower seed husk and sulfuric acid concentration applied as its modifier

Температура воздействия 1 М раствора серной кислоты оказывает благоприятное влияние на сорбционные свойства модифицированной ей подсолнечной лузги. Сорбционная емкость постепенно увеличивается при возрастании температуры модифицирующего реагента (рис. 3). Возможно, повышенная температура обеспечивает гидратацию и набухание обрабатываемого растительного материала, что облегчает доступ серной кислоты к молекулам лигнина и целлюлозы, расположенным внутри подсолнечной лузги [21].

Изменение продолжительности воздействия реагента практически не оказывает влияния на сорбционные свойства подсолнечной лузги (рис. 4), т. к. различия в сорбционных емкостях минимальны и скорее вызваны погрешностью. По-видимому, продолжительность воздействия серной кислоты на подсолнечную лузгу при ее модификации не является достаточно существенным фактором, поэтому в дальнейших расчетах его можно не учитывать.

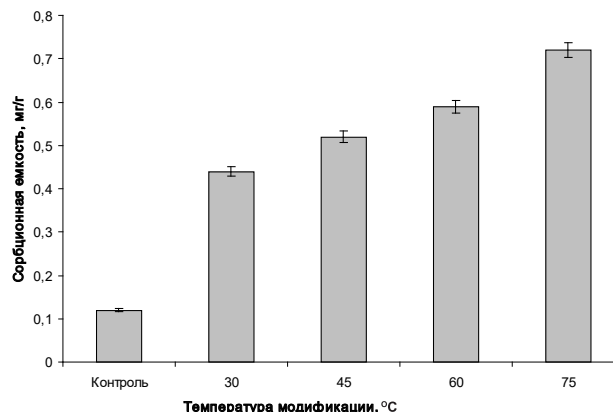


Рис. 3. Зависимость сорбционной емкости подсолнечной лузги от температуры, применяемой для ее модификации

Fig. 3. Relationship between sorption capacity of sunflower seed husk and modifying temperature

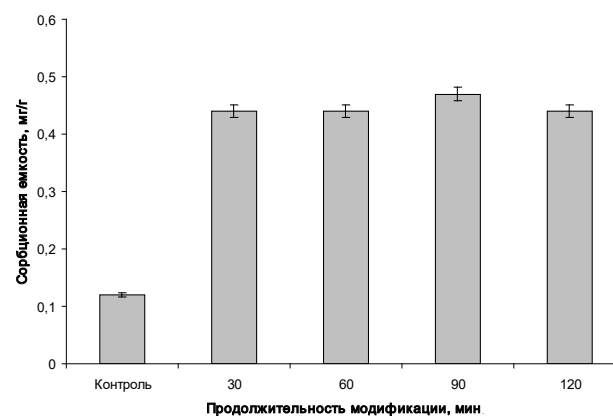


Рис. 4. Зависимость сорбционной емкости подсолнечной лузги от продолжительности ее модификации

Fig. 4. Relationship between sorption capacity of sunflower seed husk and duration of its modification

Трехуровневый полный факторный план эксперимента по модификации подсолнечной лузги

Three-level full factorial plan of experiment on sunflower seed husk modifying

№ опыта	Факторы		Отклик
	Температура воздействия реагента (Т), °C	Концентрация реагента (С), М	Сорбционная емкость (Х), мг/г
1	30	1	0,44
2	30	2	0,57
3	30	3	0,80
4	45	1	0,52
5	45	2	0,49
6	45	3	0,57
7	60	1	0,59
8	60	2	0,85
9	60	3	0,44

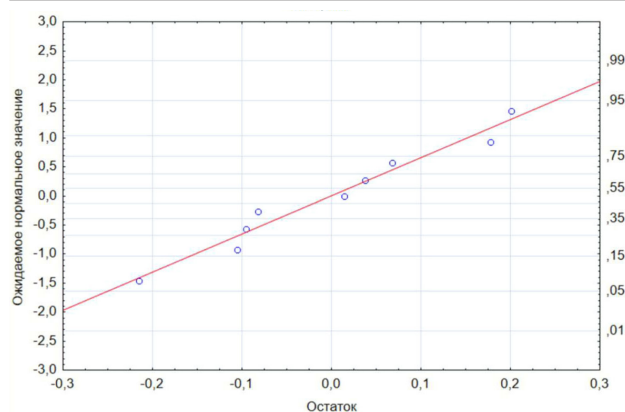


Рис. 5. Нормальный вероятностный график остатков для сорбционной емкости подсолнечной лузги

Fig. 5. Normal probability plot of the rests for sorption capacity of sunflower seed husk

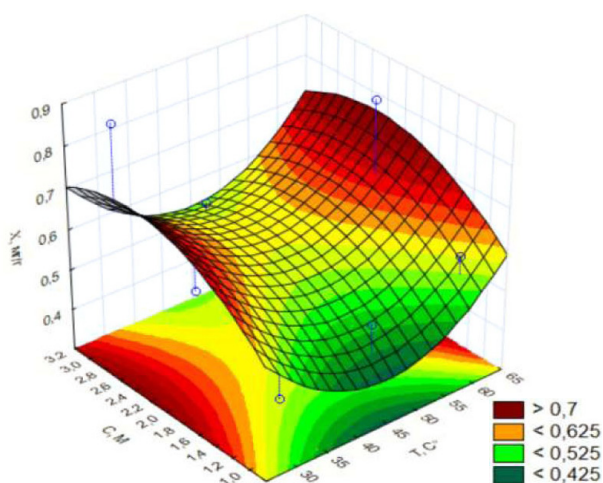


Рис. 6. Поверхность отклика для сорбционной емкости подсолнечной лузги

Fig. 6. Response surface for sorption capacity of sunflower seed husk

На основании предварительных экспериментов было установлено, что факторами, оказывающими наибольшее влияние на сорбционную емкость, являются концентрация реагента и температура, при которой он воздействует на лузгу. На основании этого был построен 3-уровневый полный факторный план эксперимента, представленный в таблице.

Поверхность отклика полученной математиче-

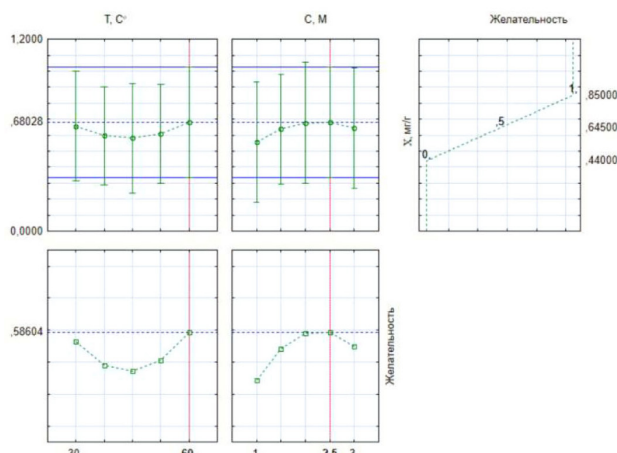


Рис. 7. Профили предсказанных значений и функций желательности

Fig. 7. Profiles of the predicted values and desirability functions

ской модели описывается следующим уравнением:

$$X = 0,586 + 0,012T + 0,043C - 0,044T^2 + 0,038C^2$$

Адекватность уравнения подтверждается нормальным вероятностным графиком распределения остатков (рис. 5).

Нормальное распределение остатков на графике также подтверждает адекватность полученной модели. Графическая интерпретация полученной модели представлена на рис. 6 и 7.

Из диаграммы поверхности отклика, а также из профилей предсказанных значений и функций желательности видно, что максимальная сорбционная емкость лузги достигается при концентрации реагента (H_2SO_4), равной 2,5 М, и температуре 60 °С.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Адсорбенты, полученные из немодифицированной и модифицированной лузги подсолнечника, являются эффективными для удаления ионов хрома (VI) из сточных вод. Для очистки воды от хрома (VI) наиболее оптимальной и эффективной является методика модификации, при которой подсолнечную лузгу обрабатывают 2,5 М раствором серной кислоты при температуре 60 °С в течение 30 мин, промывают дистиллированной водой и высушивают при температуре 105 °С до постоянной массы.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Yang X., Wan Y., Zheng Y., He F., Yu Z., Huang J., et al. Surface functional groups of carbon-based adsorbents and their roles in the removal of heavy metals from aqueous solutions: a critical review // Chemical Engineering Journal. 2019. Vol. 366. P. 608–621. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.119>.
2. Agarwal A., Upadhyay U., Sreedhar I., Singh S. A., Patel C. M. A review on valorization of biomass in heavy metal removal from wastewater // Journal of Water Process Engineering. 2020. Vol. 38. P. 101602. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101602>.
3. Joseph L., Jun B.-M., Flora J. R. V., Park C. M., Yoon Y. Removal of heavy metals from water sources in the developing world using low-cost materials: a review // Chemosphere. 2019. Vol. 229. P. 142–159. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.198>.
4. Zou Z., Tang Y., Jiang C., Zhang J. Efficient adsorption of Cr (VI) on sunflower seed hull derived porous carbon // Journal of Environmental Chemical Engineering. 2015. Vol. 3, no. 2. P. 898–905. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.02.025>.
5. Beni A. A., Esmaeili A. Biosorption, an efficient

method for removing heavy metals from industrial effluents: a review // *Environmental Technology and Innovation*. 2020. Vol. 17. P. 100503. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100503>.

6. Uddin M. K. A review on the adsorption of heavy metals by clay minerals, with special focus on the past decade // *Chemical Engineering Journal*. 2017. Vol. 308. P. 438–462. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.029>.

7. Srisorrachatr S. Modified sunflower seed husks for metal ions removal from wastewater // *Chemical Engineering Transactions*. 2017. Vol. 57. P. 247–252. <https://doi.org/10.3303/CET1757042>.

8. Wan S., Wu J., Zhou S., Wang R., Gao B., He F. Enhanced lead and cadmium removal using biochar-supported hydrated manganese oxide (HMO) nanoparticles: behavior and mechanism // *Science of the Total Environment*. 2018. Vol. 616–617. P. 1298–1306. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.188>.

9. Anastopoulos I., Ighalo J. O., Igwegbe C. A., Giannakoudakis D. A., Triantafyllidis K. S., Pashalidis I., et al. Sunflower-biomass derived adsorbents for toxic/heavy metals removal from (waste) water // *Journal of Molecular Liquids*. 2021. Vol. 342. P. 117540. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.117540>.

10. Hubetska T. S., Kobylinska N. G., García J. R. Sunflower biomass power plant by-products: properties and its potential for water purification of organic pollutants // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2021. Vol. 157. P. 105237. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2021.105237>.

11. Thinakaran N., Baskaralingam P., Pulikesi M., Panneerselvam P., Sivanesan S. Removal of acid violet 17 from aqueous solutions by adsorption onto activated carbon prepared from sunflower seed hull // *Journal of Hazardous Materials*. 2008. Vol. 151. P. 316–322. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.05.076>.

12. Konyali S. Sunflower production, consumption, foreign trade and agricultural policies in Turkey // *Social Sciences Research Journal*. 2017. Vol. 6, no. 4. P. 11–19.

13. Liou T.-H. Development of mesoporous structure and high adsorption capacity of biomass-based activated carbon by phosphoric acid and zinc chloride activation // *Chemical Engineering Journal*. 2010. Vol. 158, no. 2. P. 129–142. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.12.016>.

14. Liu Y., Li X., Sun Y., Yang R., Lee Y., Ahn J.-H. Macro-microporous carbon with a three-dimensional channel skeleton derived from waste sunflower seed shells for sustainable room-temperature sodium sulfur batteries // *Journal of Alloys and Compounds*. 2021. Vol. 853. P. 157316. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2020.157316>.

15. Alvear-Daza J. J., Pasquale G. A., Rengifo-Herrera J. A., Romanelli G. P., Pizzio L. R.

Mesoporous activated carbon from sunflower shells modified with sulfonic acid groups as solid acid catalyst for itaconic acid esterification // *Catalysis Today*. 2021. Vol. 372. P. 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2020.12.011>.

16. Yuan J. H., Xu R. K. The amelioration effects of low temperature biochar generated from nine crop residues on an acidic ultisol // *Soil Use and Management*. 2011. Vol. 27, no. 1. P. 110–115. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2010.00317.x>.

17. Жашуева К. А., Сиволобова Н. О., Грачева Н. В., Сикарская А. В. Очистка воды от ионов тяжелых металлов адсорбентами на основе растительных отходов // *Вестник технологического университета*. 2017. Т. 20. N 7. С. 142–143.

18. Abdulhussein S. A., Alwarded A. I. Single and binary adsorption of Cu(II) and Ni(II) Ions from aqueous solutions by sunflower seed husk // *Association of Arab Universities Journal of Engineering Sciences*. 2019. Vol. 26, no. 1. P. 35–43. <https://doi.org/10.33261/jaaru.2019.26.1.005>.

19. Saleh M. E., El-Refaey A. A., Mahmoud A. H. Effectiveness of sunflower seed husk biochar for removing copper ions from wastewater: a comparative study // *Soil and Water Research*. 2016. Vol. 11. P. 53–63. <https://doi.org/10.17221/274/2014-SWR>.

20. Ларина О. Г., Овчаров С. Н., Калинин А. Ю. Физико-химический анализ формирования пористой структуры и эксплуатационных свойств термомодифицированных сорбентов для очистки сточных вод // *Наука. Инновации. Технологии*. 2018. N 3. С. 195–208. <https://doi.org/10.37495/23084758-2018-3-181-195-208>.

21. Molina-Sabio M., Rodriguez-Reinoso F. Role of chemical activation in the development of carbon porosity // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2004. Vol. 241, no. 1. P. 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.04.007>.

22. Xu G., Yang X., Spinosa L. Development of sludge-based adsorbents: preparation, characterization, utilization and its feasibility assessment // *Journal of Environmental Management*. 2015. Vol. 151. P. 221–232. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.08.001>.

23. Hwang H., Choi W., Kim T., Kim J., Oh K. The preparation of an adsorbent from mixtures of sewage sludge and coal-tar pitch using an alkaline hydroxide activation agent // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2008. Vol. 83. P. 220–226. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2008.09.011>.

24. Liu Q.-S., Zheng T., Wang P., Guo L. Preparation and characterization of activated carbon from bamboo by microwave-induced phosphoric acid activation // *Industrial Crops and Products*. 2010. Vol. 31. P. 233–238. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.10.011>.

REFERENCES

1. Yang X., Wan Y., Zheng Y., He F., Yu Z., Huang J., et al. Surface functional groups of carbon-based adsorbents and their roles in the removal of heavy met-

als from aqueous solutions: a critical review. *Chemical Engineering Journal*. 2019;366:608–621. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.119>.

2. Agarwal A., Upadhyay U., Sreedhar I., Singh S. A., Patel C. M. A review on valorization of biomass in heavy metal removal from wastewater. *Journal of Water Process Engineering*. 2020;38:101602. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101602>.
3. Joseph L., Jun B.-M., Flora J. R. V., Park C. M., Yoon Y. Removal of heavy metals from water sources in the developing world using low-cost materials: a review. *Chemosphere*. 2019;229:142-159. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.198>.
4. Zou Z., Tang Y., Jiang C., Zhang J. Efficient adsorption of Cr (VI) on sunflower seed hull derived porous carbon. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2015;3(2):898-905. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.02.025>.
5. Beni A. A., Esmaeili A. Biosorption, an efficient method for removing heavy metals from industrial effluents: a review. *Environmental Technology and Innovation*. 2020;17:100503. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100503>.
6. Uddin M. K. A review on the adsorption of heavy metals by clay minerals, with special focus on the past decade. *Chemical Engineering Journal*. 2017;308:438-462. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.029>.
7. Srisorrachatr S. Modified sunflower seed husks for metal ions removal from wastewater. *Chemical Engineering Transactions*. 2017;57:247-252. <https://doi.org/10.3303/CET1757042>.
8. Wan S., Wu J., Zhou S., Wang R., Gao B., He F. Enhanced lead and cadmium removal using biochar-supported hydrated manganese oxide (HMO) nanoparticles: behavior and mechanism. *Science of the Total Environment*. 2018;616-617:1298-1306. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.188>.
9. Anastopoulos I., Ighalo J. O., Igwegbe C. A., Giannakoudakis D. A., Triantafyllidis K. S., Pashalidis I., et al. Sunflower-biomass derived adsorbents for toxic/heavy metals removal from (waste) water. *Journal of Molecular Liquids*. 2021;342:117540. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.117540>.
10. Hubetska T. S., Kobylinska N. G., García J. R. Sunflower biomass power plant by-products: properties and its potential for water purification of organic pollutants. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2021;157:105237. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2021.105237>.
11. Thinakaran N., Baskaralingam P., Pulikesi M., Panneerselvam P., Sivanesan S. Removal of acid violet 17 from aqueous solutions by adsorption onto activated carbon prepared from sunflower seed hull. *Journal of Hazardous Materials*. 2008;151:316-322. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.05.076>.
12. Konyali S. Sunflower production, consumption, foreign trade and agricultural policies in Turkey. *Social Sciences Research Journal*. 2017;6(4):11-19.
13. Liou T.-H. Development of mesoporous structure and high adsorption capacity of biomass-based activated carbon by phosphoric acid and zinc chloride activation. *Chemical Engineering Journal*. 2010;158(2):129-142. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.12.016>.
14. Liu Y., Li X., Sun Y., Yang R., Lee Y., Ahn J.-H. Macro-microporous carbon with a three-dimensional channel skeleton derived from waste sunflower seed shells for sustainable room-temperature sodium sulfur batteries. *Journal of Alloys and Compounds*. 2021;853:157316. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2020.157316>.
15. Alvear-Daza J. J., Pasquale G. A., Rengifo-Herrera J. A., Romanelli G. P., Pizzio L. R. Mesoporous activated carbon from sunflower shells modified with sulfonic acid groups as solid acid catalyst for itaconic acid esterification. *Catalysis Today*. 2021;372:51-58. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2020.12.011>.
16. Yuan J. H., Xu R. K. The amelioration effects of low temperature biochar generated from nine crop residues on an acidic ultisol. *Soil Use and Management*. 2011;27(1):110-115. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2010.00317.x>.
17. Zhashueva K. A., Sivolobova N. O., Gracheva N. V., Sikarskaya A. V. Purification of water from heavy metal ions by adsorbents based on plant waste. *Vestnik tekhnologicheskogo universiteta*. 2017;20(7):142-143. (In Russian).
18. Abdulhussein S. A., Alwared A. I. Single and binary adsorption of Cu(II) and Ni(II) Ions from aqueous solutions by sunflower seed husk. *Association of Arab Universities Journal of Engineering Sciences*. 2019;26(1):35-43. <https://doi.org/10.33261/jaa-ru.2019.26.1.005>.
19. Saleh M. E., El-Refaey A. A., Mahmoud A. H. Effectiveness of sunflower seed husk biochar for removing copper ions from wastewater: a comparative study. *Soil and Water Research*. 2016;11:53-63. <https://doi.org/10.17221/274/2014-SWR>.
20. Larina O. G., Ovcharov S. N., Kalinichenko A. Yu. Physico-chemical analysis of the formation of porous structure and performance properties of thermally modified sorbents for wastewater purification. *Nauka. Innovatsii. Tekhnologii = Science. Innovations. Technologies*. 2018;(3):195-208. <https://doi.org/10.37495/23084758-2018-3-181-195-208>. (In Russian).
21. Molina-Sabio M., Rodriguez-Reinoso F. Role of chemical activation in the development of carbon porosity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2004;241(1):15-25. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.04.007>.
22. Xu G., Yang X., Spinosa L. Development of sludge-based adsorbents: preparation, characterization, utilization and its feasibility assessment. *Journal of Environmental Management*. 2015;151:221-232. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.08.001>.
23. Hwang H., Choi W., Kim T., Kim J., Oh K. The preparation of an adsorbent from mixtures of sewage sludge and coal-tar pitch using an alkaline hydroxide activation agent. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2008;83:220-226. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2008.09.011>.
24. Liu Q.-S., Zheng T., Wang P., Guo L. Preparation and characterization of activated carbon from bamboo by microwave-induced phosphoric acid activation. *Industrial Crops and Products*. 2010;31:233-238. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.10.011>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. А. Федотов,
магистрант,
Самарский государственный технический
университет,
443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244,
Российская Федерация,
fedotov23.f@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3570-0018>

Е. Ю. Руденко,
д.б.н., доцент,
профессор Высшей биотехнологической школы,
Самарский государственный технический
университет,
443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244,
Российская Федерация,
e_rudenko@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2701-9225>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 19.09.2022.
Одобрена после рецензирования 25.10.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Aleksey A. Fedotov,
Master Student,
Samara State Technical University,
244, Molodogvardeiskaya St., Samara, 443100,
Russian Federation,
fedotov23.f@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3570-0018>

Elena Yu. Rudenko,
Dr. Sci. (Biology), Associate Professor,
Professor of the Higher Biotechnological School,
Samara State Technical University,
244, Molodogvardeiskaya St., Samara, 443100,
Russian Federation,
e_rudenko@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2701-9225>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.*

Information about the article

*The article was submitted 19.09.2022.
Approved after reviewing 25.10.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.*



Получение, термические и диэлектрические характеристики $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$

Сэсэгма Гэлэгжамсуевна Доржиева, Жибзема Гармаевна Базарова

Байкальский институт природопользования СО РАН,

г. Улан-Удэ, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Доржиева Сэсэгма Гэлэгжамсуевна, bsesegma@mail.ru

Аннотация. Цель работы состояла в направленном синтезе новой фазы $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ и определении ее кристаллографических, термических и электрофизических свойств. Методом твердофазной реакции проведен направленный синтез фазы $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ в диапазоне температур 350–470 °С. Установлено, что синтезированное соединение $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ кристаллизуется в тригональной сингонии (пр. гр. $R\bar{3}c$, $Z = 6$) и согласно данным дифференциальной сканирующей калориметрии претерпевает размытый фазовый переход первого рода. Структура тройного молибдата $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ состоит из MoO_4 -тетраэдров и октаэдрически координированных MO_6 -полиэдров. Для данной структуры характерно статистическое распределение атомов лития и циркония в позиции М ($M1 = 0,790 \text{ Zr} + 0,210 \text{ Li}$, $M2 = 0,877 \text{ Zr} + 0,123 \text{ Li}$). Атомы Rb располагаются в крупных пустотах тетраэдро-октаэдрического каркаса. Исследованы электрофизические свойства тройного молибдата $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$, обладающего каркасной структурой, благоприятной для ионного транспорта. Выявлена корреляция диэлектрических и термических характеристик в высокотемпературной области вблизи фазового перехода. Температурные и частотные зависимости электропроводности измерены в интервале температур 473–873 К в режимах нагрева и охлаждения в частотном диапазоне 1–10 кГц. Соединение обладает высокой термоактивированной проводимостью, достигающей при температуре 480 °С значения $1,48 \cdot 10^{-2} \text{ См К/см}$ с энергией активации в диапазоне 0,6–0,8 эВ. Спектры импеданса керамического образца $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ при различных температурах образуют хорошо сформированные полуокружности в низкочастотной области и неразрешенные дуги в высокочастотном регионе, изменяющиеся с повышением температуры. Эволюция мнимой части (Z'') как функции действительной части (Z') комплексного импеданса подобна поведению комплексного импеданса для соединений с ионной проводимостью.

Ключевые слова: молибдаты, фазовые равновесия, рентгенофазовый анализ, дифференциальная сканирующая калориметрия, импедансная спектроскопия

Благодарности. В работе использовано оборудование Центра коллективного пользования Байкальского института природопользования СО РАН.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Байкальского института природопользования СО РАН (№ 0273-2021-0008).

Для цитирования: Доржиева С. Г., Базарова Ж. Г. Получение, термические и диэлектрические характеристики $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 514–520. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-514-520>.

CHEMICAL SCIENCES

Original article

Synthesis, thermal and dielectric characteristics of $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$

Sesegma G. Dorzhieva, Jibzema G. Bazarova

Baikal Institute of Nature Management SB RAS, Ulan-Ude, Russian Federation

Corresponding author: Sesegma G. Dorzhieva, bsesegma@mail.ru

Abstract. This work addressed the directed synthesis of a new phase $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$, along with the determination of its crystallographic, thermal and electrophysical properties. The directed synthesis of the $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ phase was carried out using the solid-state reaction in the temperature range of 350–470 °C.

According to differential scanning calorimetry, the synthesised compound $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$, crystallised in trigonal form (space group $R\bar{3}c$, $Z = 6$), undergoes a diffused first-order phase transition. The structure of triple molybdate $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ comprises MoO_4 tetrahedra and octahedrally coordinated MO_6 -polyhedra. This structure is characterised by a statistical distribution of lithium and zirconium atoms in the M position ($M1 = 0.790 \text{ Zr} + 0.210 \text{ Li}$, $M2 = 0.877 \text{ Zr} + 0.123 \text{ Li}$). Rb atoms are located in the large voids of the tetrahedron-octahedral framework. The electrophysical properties of triple molybdate $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ having a scaffold structure favourable for ion transport, were studied. The correlation between dielectric and thermal characteristics in the high-temperature region near the phase transition was revealed. The temperature and frequency dependences of electrical conductivity were measured at 473–873 K in heating and cooling modes in the frequency range of 1–10 kHz. The compound exhibited a high thermally activated conductivity, reaching $1.48 \cdot 10^{-2} \text{ Cm K/cm}$ with activation energy in the range of 0.6–0.8 eV at a temperature of 480 °C. Well-shaped semicircles in the low-frequency region and unresolved arcs in the high-frequency region changing with increasing temperature were observed in the impedance spectra of ceramic $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ sample at various temperatures. The evolution of the imaginary part (Z'') as a function of the real part (Z') of the complex impedance resembled that of the complex impedance for compounds having ionic conductivity.

Keywords: molybdates, phase equilibria, X-ray diffraction analysis, differential scanning calorimetry, impedance spectroscopy

Acknowledgements. The equipment of the Center for Collective Use of the Baikal Institute of Nature Management of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences was used in the work.

Funding. The work was carried out within the framework of the state task of the Baikal Institute of Nature Management SB RAS (no. 0273-2021-0008).

For citation: Dorzhieva S. G., Bazarova J. G. Synthesis, thermal and dielectric characteristics of $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):514-520. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-514-520>.

ВВЕДЕНИЕ

Керамические материалы на основе сложно-оксидных соединений в зависимости от их функциональных свойств могут найти применение при изготовлении материалов для оптических устройств, электронной техники, высокотемпературных сверхпроводников, магнитных материалов, компонентов топливных элементов и источников тока. Семейства молибдатов и вольфрамов, обладающие каркасной структурой, с наличием больших полостей характеризуются высокими значениями электропроводности, а также выраженными люминесцентными и нелинейно-оптическими свойствами [1–9].

Целью данной работы являлся направленный синтез новой фазы $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ и определение ее кристаллографических, термических и электрофизических свойств.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве реагентов использовали промышленные реактивы: Li_2MoO_4 , RbNO_3 и AgNO_3 (ч.), MoO_3 и $\text{ZrO}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (ч.д.а.). Синтез одновалентных молибдатов проводили взаимодействием соответствующих нитратов с MoO_3 при постепенном повышении температуры в интервале 673–823 K (100 ч). Для получения молибдата циркония использовали стехиометрическую смесь азотнокислого цирконила и MoO_3 , которую отжигали в интервале температур 673–1023 K в течение 80 ч. Отжиг образцов проводили ступенчато с шагом 10–50 K. Перед каждой термообработкой образцы гомогенизировали.

Образец изучали методом рентгенофазового анализа на дифрактометре D8 Advance (Bruker, США)

($\text{CuK}\alpha$ -излучение) с программными пакетами Eva и TOPAS 4.2.

Для определения параметров элементарной ячейки полученного соединения по монокристалльным данным изоструктурного молибдата использовали массивы экспериментальных данных, собранных в интервале углов $2\theta: 8–100^\circ$, полученных при температуре 300 K. Пиковые положения были определены программой EVA, доступной в пакете программ ПК DIFFRAC-ПЛЮС (Bruker, США). Вычисление кристаллографических характеристик выполняли с помощью пакета программ TOPAS 4.2.

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) проведена на синхронном термоанализаторе STA 449 F1 Jupiter (Netzsch, Германия). Съёмка проводилась в атмосфере аргона в платиновых тиглях.

Для электрофизических измерений порошок тройного молибдата был спрессован в таблетки диаметром 10 мм и толщиной 1–2 мм под давлением 10 МПа. Полученные таблетки были отожжены при 723 K в течение 5 ч. Импедансная спектроскопия проводилась на LCR-анализаторе Z-1500J (ООО «Элинс», Россия). Перед проведением измерений на поверхность таблетки были нанесены электроды путем обжига платиновой пасты. Температурные и частотные зависимости диэлектрических параметров керамических образцов проанализированы в интервале температур 300–823 K и частотного диапазона 1–10 кГц в режимах нагрева и охлаждения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Поликристаллический образец $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ был получен методом твердофазной реакции путем многоступенчатого отжига в муфельной печи на воздухе в интервале температур 350–470 °C

в течение 100 ч. Для определения чистоты полученной фазы образец был исследован методом рентгенофазового анализа и ДСК.

Анализ положения и интенсивностей рефлексов новой фазы $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ на дифрактограмме показал изоструктурный характер этого соединения тройному молибдату $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Hf}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$, который кристаллизуется в тригональной симметрии пр. гр. R3c [10].

Проведено индиферирование и определение параметров элементарной ячейки $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$. Анализ дифрактограммы показан на рис. 1. Размеры тригональной элементарной ячейки: $a = 10,6830(4) \text{ \AA}$, $c = 38,337(1) \text{ \AA}$, объем $V = 3789,1(3) \text{ \AA}^3$. Структура состоит из MoO_4 -тетраэдров и октаэдрически координированных MO_6 -полиэдров. Для данной структуры характерно статистическое распределение атомов лития и циркония в позиции M ($M1 = 0,790 \text{ Zr} + 0,210 \text{ Li}$, $M2 = 0,877 \text{ Zr} + 0,123 \text{ Li}$), как в изоструктурном соединении. Атомы Rb располагаются в крупных пустотах тетраэдро-октаэдрического каркаса (рис. 2).

Методом ДСК определяли температуры фазовых переходов и плавления синтезированного соединения. Термограммы полученных соединений характеризуются наличием эндотермических эффектов при температурах 462°C (735 K) и 594°C (867 K), соответствующие температурам фазового перехода и плавления (рис. 3). Изменение направления температурной развертки позволило обнаружить температурный гистерезис. ДСК, проведенная при двойном нагреве и охлаждении без плавления, выявила эндотермический эффект при температуре 462°C (735 K) и экзотермический эффект при 413°C (686 K) на кривой ДСК при охлаждении (рис. 4). Этот факт свидетельствует о том, что обнаруженный фазовый переход в соединении является переходом первого рода.

Изучены температурно-частотные зависимости проводимости σ $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ в координатах Аррениуса в режимах нагрева и охлаждения в диапазоне частот 1–10 Гц (рис. 5). Установлено, что рассматриваемое соединение претерпевает размытый фазовый переход первого рода, что согласуется с данными ДСК. При высоких температурах проводимость существенно не зависит от частоты, и ее значения достигают величин $1,48 \cdot 10^{-2} \text{ СмК/см}$

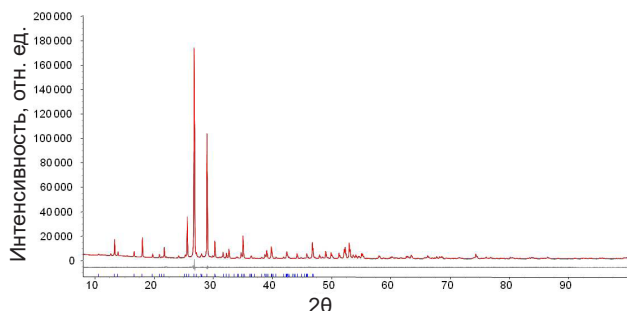


Рис. 1. Измеренная, вычисленная и разностная дифрактограммы $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$

Fig. 1. Measured, calculated, and difference diffraction patterns of $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$

при энергии активации $E_a = 0,4\text{--}0,6 \text{ эВ}$, что позволяет рассматривать эту фазу как перспективный твердый электролит [11–17].

Графики комплексного импеданса $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ при различных температурах приведены на рис. 6. Поведение годографов для этой фазы импеданса меняется с повышением температуры. Кривые характеризуются хорошо сформированными полу-

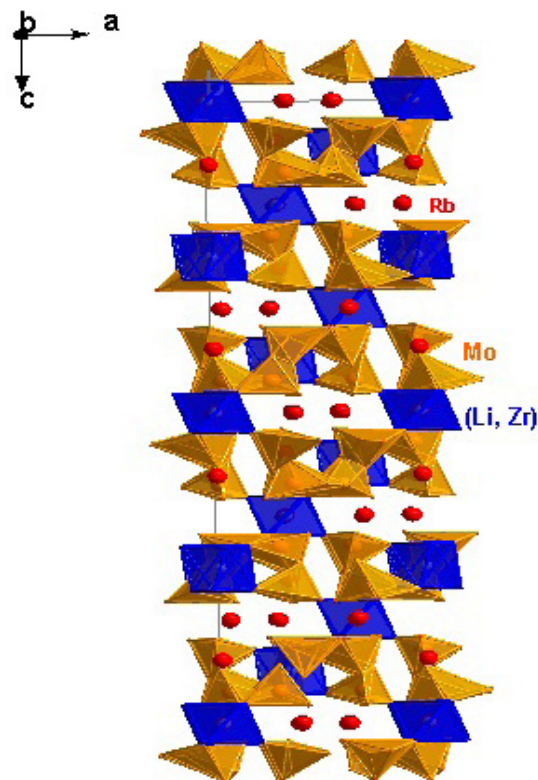


Рис. 2. Кристаллическая структура $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ вдоль оси b

Fig. 2. Crystal structure of $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ along the b axis

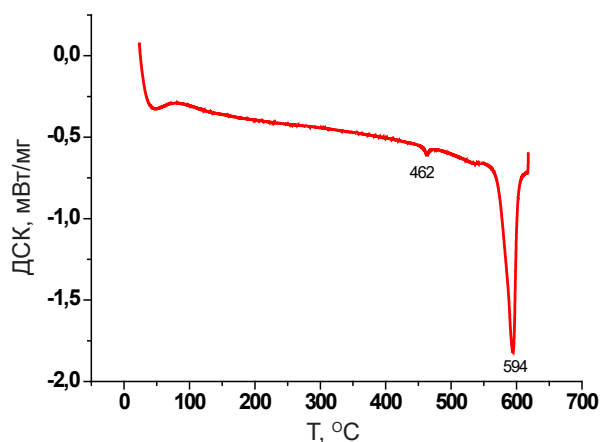


Рис. 3. Кривая нагрева дифференциальной сканирующей калориметрии $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ в режиме нагрева

Fig. 3. Heating curve of differential scanning calorimetry $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ in heating mode

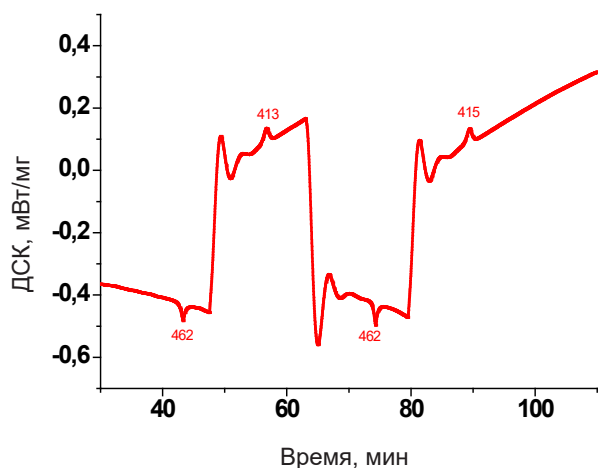


Рис. 4. Фрагмент кривой дифференциальной сканирующей калориметрии $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ в режиме нагрев–охлаждение–нагрев–охлаждение
Fig. 4. Fragment of the differential scanning calorimetry curve for $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ in heating–cooling–heating–cooling mode

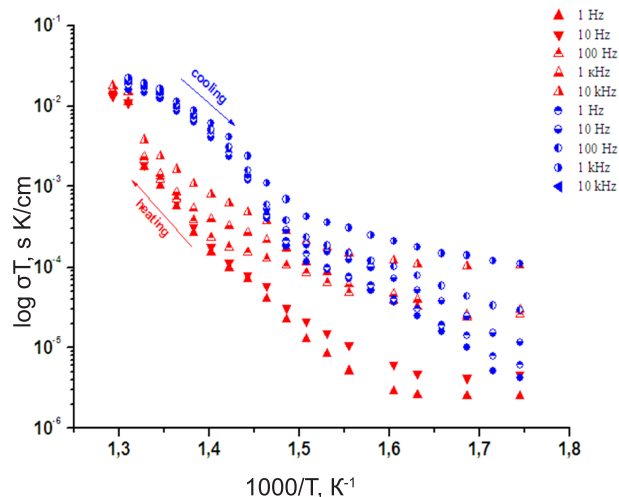


Рис. 5. Температурно-частотные зависимости проводимости тройного молибдата $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ при различных частотах 1–10 кГц в режиме нагрев–охлаждение
Fig. 5. Temperature-frequency dependences of the conductivity of ternary molybdate $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$

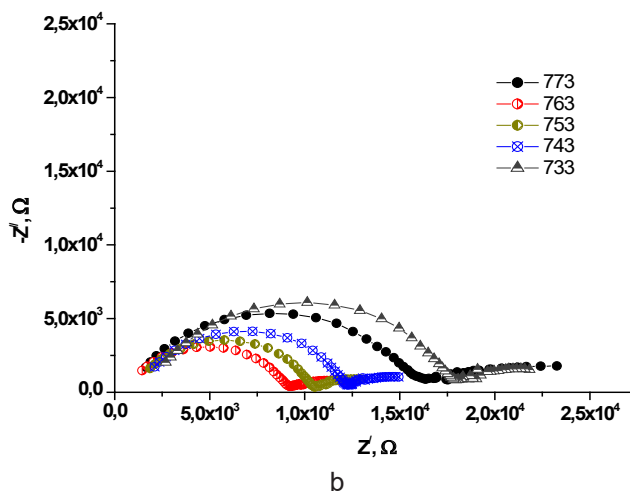
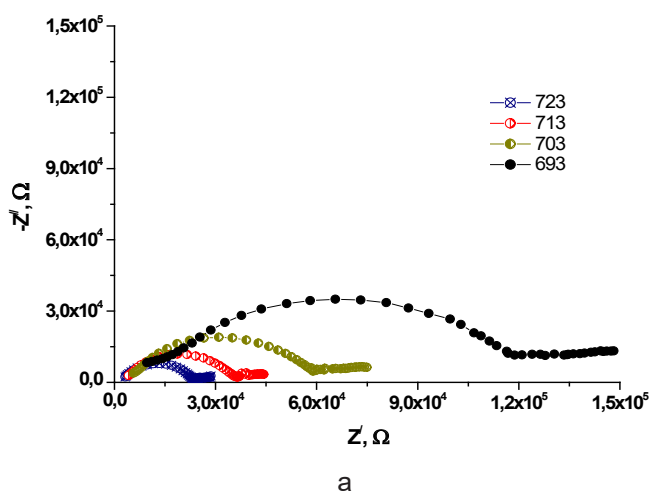


Рис. 6. Спектры импеданса при различных температурах в диапазоне 693–723 К (а) и 733–773 К (б)
Fig. 6. Impedance spectra at different temperatures in the range of 693–723 K (a) and 733–773 K (b) at different frequencies of 1–10 kHz in the heating–cooling regime

окружностями в низкочастотной области и неразрешенными дугами в высокочастотном диапазоне. Ближе к температуре фазового перехода происходит сужение низкочастотной области и формирование более четких дуг. Эволюция мнимой части (Z'') как функции действительной части (Z') комплексного импеданса подобна поведению комплексного импеданса, описанных для соединений с ионной проводимостью [18–20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, методом твердофазного синтеза получена новая фаза тройного молибдата $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$. Определены оптимальные условия синтеза и температуры фазовых переходов синтезированного $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$. Установлено,

что молибдат $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ кристаллизуется в тригональной сингонии (пр. гр. R3c), определены его кристаллографические характеристики. Наличие в структуре каналов, подходящих для передвижения ионов, является предпосылкой для ионопроводящих свойств и использования рассматриваемых соединений в качестве перспективных твердых электролитов. Выявлены корреляции диэлектрических параметров и термических свойств исследуемой фазы вблизи фазового перехода. Электрофизические измерения керамической фазы $\text{Rb}_5\text{Li}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$, представленные в виде графиков Аррениуса и годографов импеданса, показали высокую термоактивированную проводимость, достигающую значений порядка 10^{-2} СмК/см, и характер кривых, сопоставимых с соединениями с ионопроводящими свойствами.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Zouaoui M., Jendoubi I., Faouzi Zid M., Bourguiba N. F. Synthesis, crystal structure and physico-chemical investigations of a new lyonsite molybdate $\text{Na}_{0.24}\text{Ti}_{1.44}(\text{MoO}_4)_3$ // *Journal of Solid State Chemistry*. 2021. Vol. 300. P. 122221. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2021.122221>.
2. Tolstov K. S., Politov B. V., Zhukov V. P., Chul'kov E. V., Kozhevnikov V. L. Oxygen non-stoichiometry and phase decomposition of double perovskite-like molybdates $\text{Sr}_2\text{MMoO}_{6-\delta}$, where $\text{M}=\text{Mn}, \text{Co}$, and Ni // *Materials Letters*. 2022. Vol. 316, no. 1. P. 132039. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2022.132039>.
3. Jansi R. B., Swathi S., Yuvakkumar R., Ravia G., Rajalakshmi R., Al-Sehemi A. G., et al. Samarium doped barium molybdate nanostructured candidate for supercapacitors // *Journal of Energy Storage*. 2022. Vol. 56. P. 105945. <https://doi.org/10.1016/j.est.2022.105945>.
4. Кожевникова Н. М. Синтез и исследование фазы переменного состава $\text{Na}_{1-x}\text{Co}_{1-x}\text{Fe}_{1+x}(\text{MoO}_4)_3$, $0 \leq x \leq 0.4$ со структурой насикона // *Журнал прикладной химии*. 2010. Т. 83. N 3. С. 386–390.
5. Кожевникова Н. М., Батуева С. Ю., Гадиров Р. М. Люминесцентные свойства твердых растворов $\text{K}_{1-x}\text{Mg}_{1-x}\text{Sc}(\text{Lu})_{1+x}(\text{MoO}_4)_3$ ($0 \leq x \leq 0.5$), легированных ионами Eu^{3+} // *Неорганические материалы*. 2018. Т. 54. N 5. С. 482–487. <https://doi.org/10.7868/S0002337X18050081>.
6. Доржиева С. Г., Софич Д. О., Базаров Б. Г., Шендрик Р. Ю., Базарова Ж. Г. Оптические свойства молибдатов с комбинацией редкоземельных элементов // *Неорганические материалы*. 2021. Т. 57. N 1. С. 57–62. <https://doi.org/10.31857/S0002337X21010048>.
7. Gomes E. O., Gracia L., Santiago A., Tranquilin R. L., Motta F. V., Amoresi R. A. C., et al. Structure, electronic properties, morphology evolution, and photocatalytic activity in PbMoO_4 and $\text{Pb}_{1-2x}\text{Ca}_x\text{Sr}_x\text{MoO}_4$ ($x = 0.1, 0.2, 0.3, 0.4$ and 0.5) solid solutions // *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2020. Vol. 22. P. 25876–25891. <https://doi.org/10.1039/d0cp04596a>.
8. Grissa R., Martinez H., Pele V., Cotte S., Pecquernard B., Cras F. L. An X-ray photoelectron spectroscopy study of the electrochemical behaviour of iron molybdate thin films in lithium and sodium cells // *Journal of Power Sources*. 2017. Vol. 342. P. 796–807. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2016.12.117>.
9. Gurgel G. M., Lovisa L. X., Pereira L. M., Motta F. V., Li M. S., Longo E., et al. Photoluminescence properties of $(\text{Eu}, \text{Tb}, \text{Tm})$ codoped PbMoO_4 obtained by sonochemical synthesis // *Journal of Alloys and Compounds*. 2017. Vol. 700. P. 130–137. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2016.12.409>.
10. Солодовников С. Ф., Балсанова Л. В., Базаров Б. Г. Фазовые равновесия в системе Rb_2MoO_4 – Li_2MoO_4 – $\text{Hf}(\text{MoO}_4)_2$ и кристаллическая структура $\text{Rb}_5(\text{Li}_{1/3}\text{Hf}_{5/3})(\text{MoO}_4)_6$ // *Журнал неорганической химии*. 2003. Т. 48. N 7. С. 1197–1201.
11. Spiridonova T. S., Solodovnikov S. F., Molokev M. S., Solodovnikova Z. A., Savina A. A., Kadyrova Yu. M., et al. Synthesis, crystal structures, and properties of new acentric glaserite-related compounds $\text{Rb}_7\text{Ag}_{5-3x}\text{Sc}_{2+x}(\text{XO}_4)_9$ ($\text{X} = \text{Mo}, \text{W}$) // *Journal of Solid State Chemistry*. 2022. Vol. 305. P. 122638. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2021.122638>.
12. Buzlukov A. L., Medvedeva N. I., Baklanova Y. V., Skachkov A. V., Savina A. A., Animitsa I. E., et al. Sodium-ion diffusion in alluaudite $\text{Na}_5\text{In}(\text{MoO}_4)_4$ // *Solid State Ionics*. 2020. Vol. 351. P. 115328. <https://doi.org/10.1016/j.ssi.2020.115328>.
13. Bazarova J. G., Logvinova A. V., Bazarov B. G., Tushinova Yu. L., Dorzhieva S. G., Temuujin J. Synthesis of new triple molybdates $\text{K}_5\text{RZr}(\text{MoO}_4)_6$ ($\text{R} = \text{Al}, \text{Cr}, \text{Fe}, \text{In}, \text{Sc}$) in the K_2MoO_4 – $\text{R}_2(\text{MoO}_4)_3$ – $\text{Zr}(\text{MoO}_4)_2$ systems, their structure and electrical properties // *Journal of Alloys and Compounds*. 2018. Vol. 741. P. 834–839. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.01.208>.
14. Spiridonova T. S., Solodovnikov S. F., Savina A. A., Kadyrova Yu. M., Solodovnikova Z. A., Yudin V. N., et al. New triple molybdate $\text{Rb}_2\text{AgIn}(\text{MoO}_4)_3$: synthesis, framework crystal structure and ion transport behavior // *Acta Crystallographica C*. 2018. Vol. 74, no. 12. P. 1603–1609. <https://doi.org/10.1107/S2053229618014717>.
15. Solodovnikov S. F., Solodovnikova Z. A., Zolotova E. S., Yudin V. N., Gulyaeva O. A., Tushinova Yu. L., et al. Nonstoichiometry in the systems Na_2MoO_4 – MMoO_4 ($\text{M} = \text{Co}, \text{Cd}$), crystal structures of $\text{Na}_{3.36}\text{Co}_{1.32}(\text{MoO}_4)_3$, $\text{Na}_{3.13}\text{Mn}_{1.43}(\text{MoO}_4)_3$ and $\text{Na}_{3.72}\text{Cd}_{1.14}(\text{MoO}_4)_3$, crystal chemistry, compositions and ionic conductivity of alluaudite-type double molybdates and tungstates // *Journal of Solid State Chemistry*. 2017. Vol. 253. P. 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2017.05.031>.
16. Sebastian L., Piffard Y., Shukla A. K., Taulelle F., Gopalakrishnan J. Synthesis, structure and lithium-ion conductivity of $\text{Li}_{2-2x}\text{Mg}_{2+x}(\text{MoO}_4)_3$ and $\text{Li}_3\text{M}(\text{MoO}_4)_3$ ($\text{M-III} = \text{Cr}, \text{Fe}$) // *Journal of Materials Chemistry*. 2003. Vol. 13. P. 1797–1802. <https://doi.org/10.1039/b301189e>.
17. Roszbacha A., Tietza F., Grieshammer S. Structural and transport properties of lithium-conducting NASICON materials // *Journal of Power Sources*. 2018. Vol. 391. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2018.04.059>.
18. Dorzhieva S. G., Bazarova J. G., Bazarov B. G. Exploration of phase equilibria in the triple molybdate system, electrical properties of new $\text{Rb}_5\text{M}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ ($\text{M} = \text{Ag}, \text{Na}$) phases // *Journal Phase Equilibria and Diffusion*. 2021. Vol. 42. P. 824–830. <https://doi.org/10.1007/s11669-021-00927-4>.
19. Dhiaf M., Megdiche B. S., Gargouri M., Guidara K., Megdiche M. Temperature-dependent impedance spectroscopy of monovalent double tungstate

oxide // *Journal of Alloys and Compounds*. 2018. Vol. 767. P. 763–774. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.07.128>.

20. Mhiri M., Badri A., Lopez M. L., Pico C., Ama-

ra M. B. Synthesis, crystal structure, magnetic properties and ionic conductivity of $\text{NaMFe}(\text{MoO}_4)_3$ (M = Ni, Zn) // *Ionics*. 2015. Vol. 21. P. 2511–2522. <https://doi.org/10.1007/s11581-015-1439-6>.

REFERENCES

1. Zouaoui M., Jendoubi I., Faouzi Zid M., Bourguiba N. F. Synthesis, crystal structure and physico-chemical investigations of a new lyonsite molybdate $\text{Na}_{0.24}\text{Ti}_{1.44}(\text{MoO}_4)_3$. *Journal of Solid State Chemistry*. 2021;300:122221. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2021.122221>.
2. Tolstov K. S., Politov B. V., Zhukov V. P., Chulkov E. V., Kozhevnikov V. L. Oxygen non-stoichiometry and phase decomposition of double perovskite-like molybdates $\text{Sr}_2\text{MMo}_{6-\delta}$, where M=Mn, Co, and Ni. *Materials Letters*. 2022;316(1):132039. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2022.132039>.
3. Jansi R. B., Swathi S., Yuvakkumar R., Ravia G., Rajalakshmi R., Al-Sehemi A. G., et al. Samarium doped barium molybdate nanostructured candidate for supercapacitors. *Journal of Energy Storage*. 2022;56:105945. <https://doi.org/10.1016/j.est.2022.105945>.
4. Kozhevnikova N. M. Synthesis and study of the variable-composition phase $\text{Na}_{1-x}\text{Co}_{1-x}\text{Fe}_{1+x}(\text{MoO}_4)_3$, $0 \leq x \leq 0.4$, with nasicon structure. *Zhurnal prikladnoi khimii = Russian Journal of Inorganic Chemistry*. 2010;83(3):386–390. (In Russian).
5. Kozhevnikova N. M., Batueva S. Yu., Gadirov R. M. Luminescent properties of $\text{K}_{1-x}\text{Mg}_{1-x}\text{Sc}(\text{Lu})_{1+x}(\text{MoO}_4)_3$ ($0 \leq x \leq 0.5$), solid solutions doped with Eu^{3+} ions. *Neorganicheskie materialy = Inorganic Materials*. 2018;54(5):482–487. (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0002337X18050081>.
6. Dorzhieva S. G., Sofich D. O., Bazarov B. G., Shendrik R. Yu., Bazarova Zh. G. Optical properties of molybdates with a combination of rare earth elements. *Neorganicheskie materialy = Inorganic Materials*. 2021;57(1):57–62. (In Russian). <https://doi.org/10.31857/S0002337X21010048>.
7. Gomes E. O., Gracia L., Santiago A., Tranquilin R. L., Motta F. V., Amoresi R. A. C., et al. Structure, electronic properties, morphology evolution, and photocatalytic activity in PbMoO_4 and $\text{Pb}_{1-2x}\text{Ca}_x\text{Sr}_x\text{MoO}_4$ ($x = 0.1, 0.2, 0.3, 0.4$ and 0.5) solid solutions. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2020;22:25876–25891. <https://doi.org/10.1039/d0cp04596a>.
8. Grissa R., Martinez H., Pele V., Cotte S., Pecquenard B., Cras F. L. An X-ray photoelectron spectroscopy study of the electrochemical behaviour of iron molybdate thin films in lithium and sodium cells. *Journal of Power Sources*. 2017;342:796–807. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2016.12.117>.
9. Gurgel G. M., Lovisa L. X., Pereira L. M., Motta F. V., Li M. S., Longo E., et al. Photoluminescence properties of (Eu, Tb, Tm) codoped PbMoO_4 obtained by sonochemical synthesis. *Journal of Alloys and Compounds*. 2017;700:130–137. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2016.12.409>.
10. Solodovnikov S. F., Balsanova L. V., Bazarov B. G. Phase equilibria in the $\text{Rb}_2\text{MoO}_4\text{--Li}_2\text{MoO}_4\text{--Hf}(\text{MoO}_4)_2$ system and the crystal structure of $\text{Rb}_5(\text{Li}_{1/3}\text{Hf}_{5/3})$ (MoO_4)₆. *Zhurnal neorganicheskoi khimii = Russian Journal of Inorganic Chemistry*. 2003;48(7):1197–1201. (In Russian).
11. Spiridonova T. S., Solodovnikov S. F., Molokeev M. S., Solodovnikova Z. A., Savina A. A., Kadyrova Yu. M., et al. Synthesis, crystal structures, and properties of new acentric glaserite-related compounds $\text{Rb}_7\text{Ag}_{5-3x}\text{Sc}_{2+3x}(\text{XO}_4)_9$ (X = Mo, W). *Journal of Solid State Chemistry*. 2022;305:122638. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2021.122638>.
12. Buzlukov A. L., Medvedeva N. I., Baklanova Y. V., Skachkov A. V., Savina A. A., Animitsa I. E., et al. Sodium-ion diffusion in alluaudite $\text{Na}_5\text{In}(\text{MoO}_4)_4$. *Solid State Ionics*. 2020;351:115328. <https://doi.org/10.1016/j.ssi.2020.115328>.
13. Bazarova J. G., Logvinova A. V., Bazarov B. G., Tushinova Yu. L., Dorzhieva S. G., Temuujin J. Synthesis of new triple molybdates $\text{K}_2\text{RZr}(\text{MoO}_4)_3$ (R = Al, Cr, Fe, In, Sc) in the $\text{K}_2\text{MoO}_4\text{--R}_2(\text{MoO}_4)_3\text{--Zr}(\text{MoO}_4)_2$ systems, their structure and electrical properties. *Journal of Alloys and Compounds*. 2018;741:834–839. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.01.208>.
14. Spiridonova T. S., Solodovnikov S. F., Savina A. A., Kadyrova Yu. M., Solodovnikova Z. A., Yudin V. N., et al. New triple molybdate $\text{Rb}_2\text{AgIn}(\text{MoO}_4)_3$: synthesis, framework crystal structure and ion transport behavior. *Acta Crystallographica C*. 2018;74(12):1603–1609. <https://doi.org/10.1107/S2053229618014717>.
15. Solodovnikov S. F., Solodovnikova Z. A., Zolotova E. S., Yudin V. N., Gulyaeva O. A., Tushinova Yu. L., et al. Nonstoichiometry in the systems $\text{Na}_2\text{MoO}_4\text{--MMoO}_4$ (M = Co, Cd), crystal structures of $\text{Na}_{3.36}\text{Co}_{1.32}(\text{MoO}_4)_3$, $\text{Na}_{3.13}\text{Mn}_{1.43}(\text{MoO}_4)_3$ and $\text{Na}_{3.72}\text{Cd}_{1.14}(\text{MoO}_4)_3$, crystal chemistry, compositions and ionic conductivity of alluaudite-type double molybdates and tungstates. *Journal of Solid State Chemistry*. 2017;253:121–128. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2017.05.031>.
16. Sebastian L., Piffard Y., Shukla A. K., Taulelle F., Gopalakrishnan J. Synthesis, structure and lithium-ion conductivity of $\text{Li}_{2-2x}\text{Mg}_{2+x}(\text{MoO}_4)_3$ and $\text{Li}_3\text{M}(\text{MoO}_4)_3$ (M-III = Cr, Fe). *Journal of Materials Chemistry*. 2003;13:1797–1802. <https://doi.org/10.1039/b301189e>.
17. Roszbacha A., Tietza F., Grieshammer S. Structural and transport properties of lithium-conducting NASICON materials. *Journal of Power Sources*. 2018;391:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2018.04.059>.
18. Dorzhieva S. G., Bazarova J. G., Bazarov B. G. Exploration of phase equilibria in the triple molybdate system, electrical properties of new $\text{Rb}_5\text{M}_{1/3}\text{Zr}_{5/3}(\text{MoO}_4)_6$ (M = Ag, Na) phases. *Journal Phase Equilibria and Diffusion*. 2021;42:824–830. <https://doi.org/10.1007/s11669-021-00927-4>.
19. Dhiaf M., Megdiche B. S., Gargouri M., Guidara K., Megdiche M. Temperature-dependent impedance spectroscopy of monovalent double tungstate oxide. *Journal of Alloys and Compounds*. 2018;767:763–774.

<https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.07.128>.

20. Mhiri M., Badri A., Lopez M. L., Pico C., Amara M. B. Synthesis, crystal structure, magnetic properties and

ionic conductivity of $NaMFe(MoO_4)_3$ (M = Ni, Zn). *Ionics*. 2015;21:2511-2522. <https://doi.org/10.1007/s11581-015-1439-6>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

С. Г. Доржиева,

к.х.н., старший научный сотрудник,
Байкальский институт природопользования
СО РАН,
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6,
Российская Федерация,
bsesegma@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2071-1152>

Ж. Г. Базарова,

д.х.н., профессор, главный научный сотрудник,
Байкальский институт природопользования
СО РАН,
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6,
Российская Федерация,
jbaz@binm.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1231-0116>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 27.10.2022.
Одобрена после рецензирования 24.11.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Sesegma G. Dorzhieva,

Cand. Sci. (Chemistry), Senior Researcher,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sakhyanova St, Ulan-Ude, 670047,
Russian Federation,
bsesegma@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2071-1152>

Jibzema G. Bazarova,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Chief Researcher,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sakhyanova St, Ulan-Ude, 670047,
Russian Federation,
jbaz@binm.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1231-0116>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.*

Information about the article

The article was submitted 27.10.2022.
Approved after reviewing 24.11.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.

Обзорная статья

УДК 502.37; 504.054; 504.06; 504.53

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-521-537>



Использование поверхностно-активных веществ в биodeградации гидрофобных соединений: обзор

Иван Анатольевич Топчий*, Дэвард Иосифович Стом***, Кристина Юрьевна Донина**, Сергей Валерьевич Алферов***, Ирина Александровна Нечаева***, Александр Борисович Купчинский**, Борис Никитович Огарков*, Юлия Юрьевна Петрова****, Елена Владимировна Антонова*

*Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Российская Федерация

**Байкальский музей СО РАН, п. Листвянка, Российская Федерация

***Тульский государственный университет, г. Тула, Российская Федерация

****Сургутский государственный университет, г. Сургут, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Стом Дэвард Иосифович, stomd@mail.ru

Аннотация. Развитие промышленности привело к колоссальным выбросам и накоплению в окружающей среде гидрофобных органических соединений (ГОС). В первую очередь стоит назвать углеводороды нефти, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) и полихлорбифенилы. Интенсивное и широкое применение гидрофобных пестицидов в сельском хозяйстве способствовало загрязнению ими почвы, воздуха и воды. Многие из гидрофобных веществ являются опасными для представителей биоты, поскольку обладают высоким токсическим, канцерогенным и мутагенным действием на организмы. Кроме широкой распространенности, их возможные негативные эффекты определяются и устойчивостью к разложению, в том числе биологическому. Это позволяет им в течение длительного времени сохраняться в почве, воде и других средах. Воздействие ГОС на экосистемы представляет потенциальную угрозу не только для окружающей среды, но и для здоровья человека. Существует труднообозримое число исследований, посвященных ремедиации почв, загрязненных ГОС. Можно до некоторой степени условно выделить механические, химические и биоремедиационные методы. Первые два особенно широко применялись в прошлом. Биоремедиационные методы оказались более эффективными и дешевыми. Биоремедиация – это, как правило, более рентабельная и экологически безопасная технология. В последние годы показана хорошая эффективность солибилизирующих агентов в биоремедиационных процессах. Широкую популярность приобрели различные поверхностно-активные вещества (ПАВ). Их способность увеличивать десорбцию, растворимость в воде и микробную биодоступность ГОС хорошо известна. В настоящем кратком обзоре рассмотрены современные литературные сведения по биodeградации гидрофобных органических соединений, стимулируемой поверхностно-активными веществами.

Ключевые слова: биоремедиация, биodeградация, гидрофобные загрязнители, поверхностно-активные вещества, микроорганизмы

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания в области научной деятельности (проект № FEWG-2021-0013).

Для цитирования: Топчий И. А., Стом Д. И., Донина К. Ю., Алферов С. В., Нечаева И. А., Купчинский А. Б., Огарков Б. Н., Петрова Ю. Ю., Антонова Е. В. Использование поверхностно-активных веществ в биodeградации гидрофобных соединений: обзор // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 521–537. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-521-537>.

Use of surfactants in biodegradation of hydrophobic compounds: A review

Ivan A. Topchiy*, Devard I. Stom^{*,**}, Kristina Yu. Donina^{**}, Sergey V. Alferov^{***},
Irina A. Nechaeva^{***}, Alexander B. Kupchinsky^{**}, Boris N. Ogarkov*,
Yulia Yu. Petrova^{****}, Elena V. Antonova*

*Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

**Baikal Museum of the SB RAS, Listvyanka, Russian Federation

***Tula State University, Tula, Russian Federation

****Surgut State University, Surgut, Russian Federation

Corresponding author: Devard I. Stom, stomd@mail.ru

Abstract. Industrial development has led to immense emission and accumulation of hydrophobic organic compounds (HOC) in the environment. Primarily, they include petroleum hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs). The extensive use of hydrophobic pesticides in agriculture led to the contamination of soil, air and water. Many of the hydrophobic substances are dangerous for the biota due to their high toxicity and carcinogenic and mutagenic activity. In addition to their widespread use, the possible adverse effects are also determined by their resistance to decomposition, including the biological one, which defines their long-term persistence in soil, water and other media. The impact of HOC on ecosystems poses a potential threat not only to the environment but also to human health. Numerous studies were devoted to the remediation of soils polluted with HOC. The approaches to remediation can be conditionally divided into mechanical, chemical and bio-methods, with the former two being widely used in the past. Bioremediation methods proved more efficient and, as a rule, more cost-effective and environmentally friendly. In recent years, the good efficiency of solubilizing agents in bioremediation processes has been demonstrated. Various surfactants have become widely popular due to their ability to increase desorption, water solubility and microbial bioavailability of HOC. In this brief review, state-of-the-art literature data on the biodegradation of hydrophobic organic compounds using surfactants were considered.

Keywords: bioremediation, biodegradation, hydrophobic pollutants, surfactants, microorganisms

Funding. The reported study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of a state assignment in the field of scientific activity (project no. FEWG-2021-0013).

For citation: Topchiy I. A., Stom D. I., Donina K. Yu., Alferov S. V., Nechaeva I. A., Kupchinsky A. B., Ogarkov B. N., Petrova Yu. Yu., Antonova E. V. Use of surfactants in biodegradation of hydrophobic compounds: A review. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):521-537. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-521-537>.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие промышленности привело к колоссальным выбросам и накоплению в окружающей среде гидрофобных органических соединений (ГОС). Интенсивное и широкое применение гидрофобных пестицидов в сельском хозяйстве способствовало загрязнению ими почвы, воздуха и воды, поэтому их можно включить в группу ГОС [1].

Многие из гидрофобных веществ являются опасными для представителей биоты. В первую очередь стоит назвать углеводороды нефти, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) и полихлорбифенилы (ПХБ) [2–4].

Некоторые из приведенных выше классов поллютантов обладают высоким токсическим, канцерогенным и мутагенным действием на организмы. Кроме широкой распространенности, их возможные негативные эффекты определяются и устойчивостью к разложению, в том чис-

ле биологическому. Это позволяет им в течение длительного времени сохраняться в почве, воде и других средах. Воздействие ГОС на экосистемы представляет потенциальную угрозу не только для окружающей среды, но и для здоровья человека [5]. Существует труднообозримое число исследований, посвященных ремедиации почв, загрязненных ГОС, с использованием различных методов и подходов. Некоторые аспекты этой проблемы озвучены в работах [6–8]. Можно до некоторой степени условно выделить механические, химические и биоремедиационные методы. Первые два особенно широко применялись в прошлом. Однако вследствие высокой стоимости, низкой эффективности и повышенной вероятности вторичного загрязнения воздуха и подземных вод использование химических и/или физических методов заметно сокращается. Биоремедиационные методы оказались более

эффективными, дешевыми и прочно укрепились как экологически наиболее безвредный способ восстановления плодородия почв. Биоремедиация – это, как правило, рентабельная и экологически безопасная технология [9–14]. Очевидно, что эффективность биоремедиации во многом зависит от выбора активных организмов, соответствующих условий почвы и устойчивости поллютантов к биоразложению [15, 16].

В последние годы показана хорошая эффективность солицизирующих агентов в биоремедиационных процессах. Широкую популярность приобрели различные поверхностно-активные вещества (ПАВ). Способность ПАВ увеличивать десорбцию, растворимость в воде и микробную биодоступность ГОС хорошо известна [17–24].

В настоящем кратком обзоре рассмотрены современные литературные сведения по биодegradации гидрофобных органических соединений, стимулируемой поверхностно-активными веществами.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ПОЗВОЛЯЮЩИЕ ПРИМЕНЯТЬ ИХ В БИОРЕМЕДИАЦИОННЫХ ПРОЦЕССАХ

ПАВ представляют собой амфифильные соединения, в молекулярной структуре которых имеются как гидрофобные, так и гидрофильные группы. В зависимости от химической природы гидрофильной части ПАВ классифицируют на неионогенные и ионные. В свою очередь, ионные ПАВ могут быть катионными, анионными или амфотерными (несущими как положительный, так и отрицательный заряд и ведущими себя как цвиттер-ион в изоэлектрической точке) [25]. Кроме того, выделяют и полимерные ПАВ [26].

Многие представители ПАВ способны в водном растворе агрегировать с образованием мицелл. Отличительной особенностью ПАВ, собранных в эти кластеры, является то, что неполярная центральная часть мицеллы может захватывать ГОС. Это повышает растворимость ГОС в водных средах и тем самым увеличивает их биодоступность. Данное свойство является ключевым во многих ремедиационных процессах, связанных с удалением ГОС [27, 28].

Амфифильные свойства молекул ПАВ позво-

ляют им взаимодействовать с различными гидрофобными соединениями. В этом заключается их поверхностная активность. Так, к примеру, ПАВ эффективно снижают межфазное натяжение вода/сырая нефть до сверхнизких значений ($<10-2$ мН/м) и способствуют образованию эмульсий и микроэмульсий, приводя к мобилизации захваченной нефти [29].

Эмульгирующая активность – важный фактор, влияющий на образование стойких эмульсий ПАВ. Это свойство нашло применение в эффективном выкачивании нефти в ходе ее добычи. Показано, что эмульсии типа масло/вода могут способствовать увеличению объема нефтяного пласта путем закупоривания каналов с высокой проницаемостью [30, 31]. С другой стороны, эмульсии типа вода/масло с высокой вязкостью могут усиливать эффективность захвата и коэффициент подвижности закачиваемой жидкости [32, 33]. Кроме того, микроэмульсии демонстрируют исключительную эффективность экстракции, повышая извлечение нефти [34–36].

Фазовое поведение микроэмульсии зависит от концентрации ПАВ, соотношения нефть:вода, солености и температуры. Микроэмульсии, образованные различными видами ПАВ, отличаются чувствительностью к факторам, воздействующим на нее. По сравнению с ионным ПАВ, температура оказывает более значительное влияние на фазовое поведение микроэмульсии неионогенных ПАВ. Межфазное напряжение и солибилизирующая способность также меняются в зависимости от типа фазы [37].

Значительное число исследований посвящено влиянию фракций (таблица) сырой нефти (в частности тяжелых фракций) на различные межфазные процессы (снижение межфазного натяжения, эмульгирующие свойства, адсорбция) на границе раздела вода–масло [37–42].

П. Шарма и соавторы показали, что состав, содержащий натриевую соль пропоксисульфатного спирта, диоктилсульфосукцинат натрия, монобутиловый эфир триэтиленгликоля и хлорид натрия, эффективен для растворения тяжелой фракции нефти в однофазной микроэмульсии. С его помощью все компоненты смол были солибилизованы. Анализ солености некоторых составов ПАВ выявил необычную зависимость параметра солилизации нефти от высокой солености раствора.

Классификация нефти по фракциям
 Oil classification by fractions

Фракция	Тип фракций		Условия получения	Температура кипения
Петролейная	Легкие	Светлые	Атмосферная перегонка	До 100 °С
Бензиновая				100–140 °С
Лигроиновая	Средние			140–180 °С
Керосиновая				180–220 °С
Дизельная				220–350 °С
Вакуумный газойль	Тяжелые	Темные (мазуты)	Вакуумная перегонка	350–500 °С
Гудрон (вакуумный остаток)				Более 500 °С

Результаты тестирования показали, что возможно получение однофазной микроэмульсии при динамических условиях. При этом извлечение нефти из нефтеносных песков было возможно при низком давлении. После чего солюбилизация была очень высокой и достигала 320 кг/м³ [43].

В. Р. Масрат и соавторы исследовали солюбилизацию нафталина и пирена различными мицеллярными композициями на основе неионогенных (Brij-30 и Brij-56), катионных (додецилэтилдиметиламмоний бромид, цетилтриметиламмоний бромид) и анионных (додецилсульфат натрия) ПАВ. Они выяснили, что порядок солюбилизации ПАВ убывает в ряду неионогенный ПАВ > катионный ПАВ > анионный ПАВ с логарифмической шкалой значения коэффициента разделения мицелла/вода (Km) 4,79; 4,66 и 4,32 для нафталина и 6,91; 6,64 и 6,44 для пирена соответственно [44]. Аналогичный порядок ранее наблюдали для анионных и неионных ПАВ при солюбилизации нафталина и фенантрена [45].

ОБСУЖДЕНИЕ ПЕРСПЕКТИВ ПРИМЕНЕНИЯ ПАВ ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Многие ПАВ, начиная с определенной концентрации, обладают токсическим действием различной степени по отношению к организмам. Во многом оно определено физико-химическими свойствами. К примеру, токсичность неионогенных ПАВ зависит от длины углеводородной и этоксилированной цепей. Чем длиннее алкильная цепь и короче этоксилированная, тем токсичнее соединение. Линейные молекулы зачастую более токсичны, чем разветвленные, хотя этот эффект компенсируется большей биоразлагаемостью первых [46]. Адгезия ПАВ на поверхности клеток может приводить к изменению заряда, дзета-потенциала, гидрофобности клеточной стенки и плазмалеммы. Все это ведет к нарушению их барьерных функций, проницаемости, а также других клеточных процессов и сказывается на росте и жизнеспособности микроорганизмов. В исследовании Л. Ванга и соавторов α -гемолитические стрептококки под воздействием цетилтриметиламмоний бромида (ЦТАБ) в концентрации 0,1% испытывали все вышеперечисленные негативные эффекты [47, 48].

Накопление ПАВ в тканях и органах приводит к нарушениям в развитии эмбрионов у животных и замедлению прорастания семян растений [49, 50]. Они способны деформировать клетки и приводить к сбоям в осморегуляции [51]. Потенциальная токсичность ПАВ ограничивает их применение в биоремедиационных технологиях. Поэтому ключевым аспектом в решении этой проблемы является подбор низкотоксичных либо нетоксичных и, что не менее важно, биоразлагаемых соединений или использование биосурфактантов – биологических ПАВ, продуцируемых, прежде всего, микроорганизмами, а также организмов-биодеструкторов, способных адаптироваться к присутствию ПАВ.

ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА В БИОРЕМЕДИАЦИИ

Серьезным фактором, ограничивающим применение ПАВ в биоремедиации гидрофобных загрязнителей, является их сильная сорбция на твердых фазах [52, 53]. ПАВ способны увеличивать растворимость ГОС в воде и вызывать их десорбцию. Поскольку поглощение органических соединений микроорганизмами происходит в основном через водную фазу, то распределение ГОС в мицеллярной псевдофазе ПАВ может сильно влиять на кинетику биоремедиации [4]. Большинство коллоидных частиц почвы заряжены отрицательно. Поэтому они могут связываться с катионными и анионными ПАВ посредством ионного обмена и ионной синхронизацией [54]. Последующее уменьшение межфазного напряжения между почвой и водой облегчает миграцию ГОС.

Интерес к биоремедиации ГОС не утихает, что следует из роста публикаций на эту тему. Несколько статей [54–56] и глав в книгах [57] обобщили данные об эффективности биоремедиации с добавлением ПАВ. За последние годы накоплено немало материалов, подтверждающих эффективность применения ПАВ в биоремедиации.

Л. Матураса и соавторы обнаружили, что добавление анионного ПАВ дигексилсульфосукцината натрия способствовало взаимодействию трибутилолова с почвенными бактериями и ускорению бактериальной деградации. Такой же эффект наблюдали для его продуктов распада (дибутилолово и монобутилолово). Критическая концентрация мицеллообразования (ККМ) дигексилсульфосукцината натрия (10 мМ) не увеличивала количество десорбированного трибутилолова в начале эксперимента. Вместе с тем она усиливала бактериальную деградацию 100 мг Sn/кг данного ГОС. Параллельно наблюдали увеличение количества моно- и дибутилолова в жидкой фазе через 2 недели. В то же время десорбированное трибутилолово было вновь поглощено почвой в опыте без внесения ПАВ. Комплекс мономеров трибутилолова и ПАВ усиливал взаимодействие данного оловосодержащего ГОС с местными почвенными бактериями. Концентрация мицеллообразования у дигексилсульфосукцината натрия выше ККМ (70 мМ) не приводила к биоразложению десорбированного трибутилолова, поскольку высокие концентрации трибутилолова и ПАВ создавали синергетическое токсическое действие на бактерии [58].

А. Родригез и соавторы изучали влияние синтетических ПАВ в низких концентрациях на кинетику биоразложения ПАУ (флуорантен и антрацен) с помощью *Pseudomonas putida*, штамм ATCC 17514 и адгезию этих бактерий к ПАУ. Предполагается, что адгезия микроорганизмов играет важную роль в поглощении и трансформации ГОС. В работе использовали три ПАВ (додецилсульфат натрия, цетилтриметиламмония бромид, твин-20). Показано, что эффект каждого ПАВ на способность штамма ATCC 17514 разлагать флуорантен и антрацен и использовать их

как субстрат для роста значительно различался. Твин-20 в концентрации 0,08 мМ увеличивал скорость биоразложения флуорантена и удваивал максимальную удельную степень деградации антрацена. Присутствие додецилсульфата натрия в концентрации 0,35 мМ привело к снижению биодegradации флуорантена на 50%. Вместе с тем это в два раза повысило скорость удаления более гидрофобного антрацена (0,3 мг/л в ч). Наконец, цетилтриметиламмоний бромид в концентрации 0,27 мМ оказывал отрицательное влияние на биоразложение ПАУ, приводя к резкому снижению роста микроорганизмов [59].

Катионные ПАВ довольно прочно сорбируются на почвенных частицах [53]. С другой стороны, анионные ПАВ могут осаждаться 2-валентными катионами в почве [60]. Поэтому, как показывают результаты многих исследований, неионогенные ПАВ оказались более подходящими для восстановления загрязненных почв, чем катионные или анионные ПАВ [61]. Среди этих неионогенных ПАВ особый интерес вызывает полиоксиэтилен(20)сорбитанмоноолеат (Твин-80, $C_{64}H_{124}O_{26}$). Он отличается довольно низкой стоимостью и малой токсичностью для почвенных микроорганизмов по сравнению с большинством других неионогенных ПАВ [62]. Эти особенности Твина-80 стимулировали многочисленные эксперименты по его применению в биоремедиации почв, загрязненных ГОС.

Помимо полиоксиэтилен(20)сорбитанмоноолеата (твин-80) в биоремедиации сред, загрязненных ГОС, используются другие неионогенные ПАВ. И. Со и П. Л. Бишоп изучили биодegradацию фенантрена в почве биопленкой, образованной бактериями рода *Pseudomonas* с использованием системы непрерывно проточных ячеек. Были сконструированы 32 проточных реактора для мониторинга разложения фенантрена и образования биопленок при 5 различных концентрациях неионогенного ПАВ (Тритон X-100): 0, 100, 200, 500 и 1000 мг/л. Среди испытанных брали концентрации ниже (0 и 100 мг/л) и выше (200, 500 и 1000 мг/л) ККМ. Показано, что образование бактериальной биопленки с внеклеточными полимерными веществами было стратегией бактерий по утилизации частично растворимых ПАУ. Однако в присутствии ПАВ эта стратегия была изменена. Все испытанные концентрации Тритон X-100 влияли на физиологические аспекты образования биопленки, а биодоступность фенантрена увеличивалась при добавлении ПАВ в концентрациях выше ККМ [63].

Д. К. Вольф и Дж. Ганоценили в своем исследовании оценили минерализацию 14С-пирена в почвах с добавлением и без добавления *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. Было охарактеризовано действие синтетического неионогенного

ПАВ Brij-35. Оказалось, что Brij-35 обычно увеличивал разложение 14С-пирена, особенно в концентрации 216 мкг/г сухой почвы. Это может быть связано с повышенной биодоступностью пирена. Brij-35 не оказывал токсического воздействия на *M. vanbaalenii* PYR-1 при 10-кратной ККМ. Также в исследовании изучен вклад рамнолипида. Вероятно, он служил более выгодным источником углерода вместо 14С-пирена для бактерий. Это приводило к ингибированию деградации 14С-пирена. Его минерализация до 14С- CO_2 под действием *M. vanbaalenii* PYR-1 достигала 60% через 10 дней. Процесс наблюдали как в свободных от ПАВ почвах, так и в почвах с Brij-35. По мнению авторов, выбор ПАВ для усиления биоремедиации имеет решающее значение [64].

БИОДЕГРАДАЦИЯ ГИДРОФОБНЫХ ПЕСТИЦИДОВ

Неблагоприятное воздействие агрохимикатов на окружающую среду общеизвестно. Применение пестицидов в сельском хозяйстве приводит к загрязнению почвы, воздуха и воды. В природных экосистемах на пестициды, их подвижность и трансформацию влияют физические, химические и/или биологические факторы. Они включают биоразложение, улетучивание, аккумуляцию в почве, поглощение растениями и микроорганизмами, а также перенос в почву и поверхностные воды [65]. Кроме того, на их распределение в почве, воде и воздухе влияют межфазный перенос и процессы адсорбции/десорбции [66]. Пестициды, поглощаемые живыми организмами, подвержены биоаккумуляции [67] и частичному преобразованию в другие соединения [68, 69].

Гидрофобные пестициды считаются неподвижными в почве из-за их очень низкой растворимости в воде. Однако во всем мире в подземных водах и удаленных экосистемах обнаружено значительное количество гидрофобных пестицидов. Эти данные о повышенной непреднамеренной подвижности в почве могут быть объяснены преимущественным течением воды или переносом с почвенными коллоидами [70]. За счет ПАВ возможно увеличить переход гидрофобных пестицидов в раствор и повысить доступность для микроорганизмов-биодеструкторов.

Некоторые работы подробно иллюстрируют процессы биодegradации различных пестицидов микроорганизмами в присутствии ПАВ. А. К. Сингх и С. С. Камеотра показали, что степень и скорость микробной деградации гербицида атразина зависят от типа ПАВ, концентрации, используемого штамма, целевого соединения и условий окружающей среды. В исследовании был применен штамм *Acinetobacter* sp. А6, трансформирующий атразин в процессе деалкилирования. В присутствии ПАВ (рамнолипиды *Pseudomonas*

aeruginosa A11 и Тритон X-100) на степень и скорость деградации атразина в значительной степени влияли смежные условия. В минерально-солевой среде добавление ПАВ снижало скорость деградации атразина за счет уменьшения взаимодействия между более гидрофобными бактериями и мицеллами, заключенными в атразин. Однако в почвенной системе добавление ПАВ усиливало деградацию за счет усиления десорбции атразина из почвы и делало его более доступным для *Acinetobacter* sp. А6. Продемонстрировано, что рамнолипиды сильнее увеличивают микробную деградацию атразина, чем Тритон X-100 [71].

Дж. Чжао и соавторы изучили влияние 2-х био-разлагаемых неионогенных ПАВ (Твин-80 и Brij-35) и β -циклодекстрина (β -ЦД) на гидрофобность клеточной поверхности *Bacillus licheniformis* B-1 и степень биодegradации β -циперметрина. Кроме того, авторами исследовано влияние выбранных ПАВ на растворимость, сорбцию и разложение β -циперметрина. Биодegradация этого пестицида достаточно низкая, особенно при высоких концентрациях. Как правило, это происходит из-за плохого контакта между β -ЦД и клетками микроорганизмов-биодеструкторов. Результаты показали, что Твин-80 немного стимулирует рост штамма, в то время как Brij-35 и β -ЦД мало влияют на его рост. Гидрофобность клеточной поверхности *B. licheniformis* B-1 и растворимость β -циперметрина заметно менялись при использовании Твина-80 и Brij-35. ПАВ и β -ЦД усиливали сорбцию и деградацию β -циперметрина штаммом B-1. Наиболее сильно пестицид разлагался в присутствии Brij-35. Когда концентрация ПАВ или β -ЦД была 2,4 г/л, скорость деградации пестицида при обработке Brij-35, Твином-80 и β -ЦД составляла 89,4; 50,5 и 48,1% соответственно. Период полувыведения β -циперметрина при использовании Brij-35 сократился на 69,1 ч. Содержание этого пестицида в почве как в присутствии штамма B-1, так и с *B. licheniformis* B-1 и Brij-35 снизилось с 22,29 до 4,41 мг/кг после инкубации в течение 22 дней.

Из вышесказанного следует, что ПАВ различной природы могут быть применены для повышения биодоступности гидрофобных пестицидов.

БИОДЕГРАДАЦИЯ ГИДРОФОБНЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ В ПРИСУТСТВИИ БИОПАВ

Поверхностно-активные вещества природного происхождения, продуцируемые организмами, получили название биоПАВ. Изучение биоПАВ началось еще в 60-х годах XX века и интенсивно продолжается по сей день [72–74]. Такое внимание обусловлено тем, что биоПАВ находят применение в различных отраслях промышленности благодаря преимуществам перед синтетическими

ПАВ. Они обладают низкой токсичностью; био-разлагаемостью; способностью функционировать в широких диапазонах pH, температуры и солености среды; высокой поверхностной активностью и могут быть получены биотехнологически из промышленных отходов и побочных продуктов нефтепереработки [75].

БиоПАВ разделяют на два основных класса [76]: низкомолекулярные соединения, называемые биосурфактантами (липопептиды, гликолипиды, пептиды), и высокомолекулярные полимеры (полисахариды, протеины, липополисахариды, липопротеины или комплекс этих биополимеров), которые называются биоэмульсанами [77], или биоэмульгаторами. В первую группу входят молекулы, которые могут эффективно снижать поверхностное и межфазное натяжение, а ко второй относятся амфифильные и полифильные полимеры, обладающие высокой и стабильной эмульгирующей активностью в системе масло–вода, но невысокой поверхностной активностью [78].

По своему строению биоПАВ классифицируются на гликолипиды (рамнолипиды, трегалолипиды, софоролипиды); липопептиды и липопротеины; жирные кислоты; фосфолипиды; полимерные сурфактанты; связанные биосурфактанты [75]. Также можно выделить сапонины – биоПАВ растительного происхождения.

Биосурфактанты микроорганизмов. Микроорганизмы являются основными продуцентами биосурфактантов. Большой интерес для изучения и применения представляет один из наиболее распространенных типов биоПАВ микробной природы – гликолипидные биосурфактанты. К ним относят рамнолипиды, софоролипиды, трегалолипиды. Продуцентами трегалолипидов являются бактерии родов *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Gordonia*, *Arthrobacter* [73].

В работе Т. М. Льюнг и соавторов [79] показано, что бактерии-деструкторы углеводов нефти рода *Rhodococcus* являются эффективными продуцентами биосурфактантов гликолипидной природы: поверхностное натяжение среды уменьшалось с 72 до 27 мН/м. Содержание трегалолипидов составило 305 и 280 мг/л для *Rhodococcus erythropolis* X5 и *Rhodococcus erythropolis* S67 соответственно. Установлено, что основными гликолипидными биосурфактантами, продуцируемыми бактериями *Rh. erythropolis* X5 и *Rh. erythropolis* S67, выращенными на *n*-гексадекане, как при 26 °С, так и при 10 °С являются 2,3,4-сукцинил-окта-ноил-деканойл-2'-деканойлтрегалоза и 2,3,4-сукцинил-диоокта-ноил-2'-деканойлтрегалоза [80, 81]. Кроме того, авторами работы показано, что качественный состав биосурфактантов, продуцируемых бактериями *Rhodococcus* при росте на *n*-гексадекане в условиях пониженной температуры 10 °С, в целом соответствует составу биосурфактан-

тов, продуцируемых этими бактериями при температуре 26 °С. Это означает, что важную роль в процессе потребления гидрофобных субстратов бактериями-нефтедеструкторами играют гликолипидные биосурфактанты, которые способствуют доступности для микроорганизмов *n*-гексадекана, находящегося как в жидком при 26 °С, так и в твердом состоянии при 10 °С. Кроме того, выявлена корреляция между содержанием трегаполипидных биоПАВ и степенью биodeградации *n*-гексадекана [82].

Для характеристики поверхностно-активных свойств сукцинилтрегаполипидов была определена зависимость поверхностного натяжения на границе раздела воздух–вода от содержания вещества в растворе. Зависимость имеет типичный для ПАВ вид: резкое снижение значений поверхностного натяжения наблюдали уже при небольших концентрациях вещества. Значение ККМ составило $4,1 \times 10^{-5}$ М (32 мг/л) при постоянном поверхностном натяжении 27 мН/м, что свидетельствует о высокой поверхностной активности сукцинилтрегаполипида как сурфактанта. Индекс эмульгирования (E_{24}) выделенных сукцинилтрегаполипидов в системе с гексадеканом составил 55%. Тип образуемой эмульсии любого ПАВ с гидрофобным субстратом зависит от гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) вещества. ГЛБ является критерием практического применения ПАВ, в зависимости от величины которого и подбирают сурфактанты и эмульгаторы. Рассчитанное значение ГЛБ сукцинилтрегаполипидов находится в интервале 10–11. Согласно шкале Гриффина, вещества со значениями ГЛБ 8–18 способны образовывать эмульсии типа масло в воде. Молярная солюбилизация гексадекана составила 4 моль на 1 моль сукцинилтрегаполипида в водном растворе [81].

А. Б. Молдес и соавторы сравнили биоремедиацию загрязненной почвы углеводородами нефти (УН) в различных условиях и предположили положительную роль биосурфактантов в биоразложении загрязняющих веществ. Биосурфактант, производимый *Lactobacillus pentosus*, значительно ускорил биodeградацию нефтяных углеводородов после 40 дней инкубации [83]. К. Патель и М. Пательна оценили возможность *Stenotrophomonas* sp. S1VKR-26 продуцировать биосурфактант и определили его способность к биоремедиации сточных вод нефтеперерабатывающих заводов *ex situ* в биореакторе. Также была оценена фитотоксичность сточных вод после биоремедиации. Было обнаружено, что штамм продуцирует 5,15 г/л биосурфактанта, 30 мг/л ККМ и снижает поверхностное натяжение с 60,3 до 30,5 мН/м. Содержание нафталина было снижено на 93%, фенантрена – на 86%, флуорантена – на 92%, пирена – на 98,3%, УН – на 72,33%, фенольных соединений – на 93,06%. Более того, сточные воды нефтепродуктов, обработанные штаммом S1VKR-26 в соотношении 1:1, демонстрируют высокую всхожесть (100%), силу роста (486) и длину ростков (4,86 см) по сравнению с необра-

ботанными сточными водами [84]. И. Б. Ившина, М. С. Куюкина и соавторы изучили возможность использования консорциума иммобилизованных в полимерном носителе актинобактерий рода *Rhodococcus* для обработки нефтепромысловой сточной воды в биореакторе. Установлено, что клетки *R. opacus* ИЭГМ 263 и *R. ruber* ИЭГМ 231 сохраняли жизнеспособность при высоком содержании минеральных солей в воде и были способны окислять нефтяные углеводороды на 62–81%. Показано, что консорциум родококков более эффективно удалял нефтепродукты из промышленной воды по сравнению с монокультурами [85].

Из вышесказанного следует, что биосурфактанты микробного происхождения обладают высокой поверхностной и эмульгирующей активностью и могут быть использованы в биоремедиации территорий, загрязненных гидрофобными поллютантами.

Биосурфактанты растительного происхождения. Некоторые растения способны продуцировать ПАВ, которые относят к классу сапонинов. Это гликозиды, содержащие одну или несколько сахарных цепей с трипереновыми или стероидными агликонами. Применение сапонинов не ограничено областями медицины, пищевой промышленности и косметологии. В последние десятилетия солюбилизирующие и поверхностно-активные свойства этих соединений все чаще позволяют рассматривать их в качестве альтернативы синтетическим ПАВ в биоремедиации гидрофобных поллютантов [6, 86–89]. Так, в одном из последних исследований Юэ Сун и соавторы изучали взаимосвязь между температурой и солюбилизацией нафталина сапонином путем измерения ККМ, размера частиц и термодинамики. Результаты показали, что солюбилизирующий эффект сапонины увеличивается при повышении температуры с 298 до 313 К. Это также приводило к снижению ККМ, увеличению диаметра частиц и усилению молекулярной активности. Все вышеперечисленное создавало усиленный солюбилизирующий эффект сапонины. Показана потенциальная применимость сапонины для улучшенной ремедиации нафталина [90].

М. Давин и соавторы исследовали потенциал сапонинов как экстрагирующих агентов и усилителей биоремедиации почв, загрязненных ПАУ. Поллютанты из образцов почвы экстрагировали растворами сапонинов (0, 1, 2, 4 и 8 г/л) и инкубировали в течение 14 дней. Показано, что раствор сапонинов объемом 4 г/л экстрагировал значительное количество аценафтена, флуорена, фенантрена, антрацена и пирена [91].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В обзоре собраны и рассмотрены современные литературные сведения по биodeградации ГОС, стимулируемой ПАВ. За последние годы накоплено немало результатов исследований, подтверждающих эффективность применения различных по химической природе ПАВ в биоремедиации. Отмечено, что одни соединения в

определенных концентрациях влияют на биоремедиацию положительно, в то время как другие либо не оказывают желаемого эффекта, либо даже способствуют угнетению биодеструкции. Однако тонкости биоремедиационных процессов в присутствии ПАВ остаются слабо изученными как на биофизическом, так и на биохимическом

уровнях. Особое внимание в последнее время сосредоточено на изучении биоПАВ – микробных биосурфактантов и сапонинов. Эти соединения обладают высокой способностью к биоразложению и низкой токсичностью для живых организмов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. García-Delgado C., Marín-Benito J. M., Sánchez-Martín M. J., Rodríguez-Cruz M. S. Organic carbon nature determines the capacity of organic amendments to adsorb pesticides in soil // *Journal of Hazardous Materials*. 2020. Vol. 390. P. 122–162. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122162>.
2. Jin M., Yu X., Yao Z., Tao P., Li G., Yu X., et al. How biofilms affect the uptake and fate of hydrophobic organic compounds (HOCs) in microplastic: insights from an in situ study of Xiangshan Bay, China // *Water Research*. 2020. Vol. 184. P. 116–118. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116118>.
3. Taylor A. C., Fones G. R., Vrana B., Mills G. A. Applications for passive sampling of hydrophobic organic contaminants in water – a review // *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2021. Vol. 51, no. 1. P. 20–54. <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1675043>.
4. Trellu C., Mousset E., Pechaud Y., Huguenot D., van Hullebusch E. D., Esposito G., et al. Removal of hydrophobic organic pollutants from soil washing/flushing solutions: a critical review // *Journal of Hazardous Materials*. 2016. Vol. 306. P. 149–174. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.12.008>.
5. Zeng Z., Liu Y., Zhong H., Xiao R., Zeng G., Liu Z., et al. Mechanisms for rhamnolipids-mediated biodegradation of hydrophobic organic compounds // *Science of the Total Environment*. 2018. Vol. 634. P. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.349>.
6. Kupryianchyk D., Hale S., Zimmerman A. R., Harvey O., Rutherford D., Abiven S., et al. Sorption of hydrophobic organic compounds to a diverse suite of carbonaceous materials with emphasis on biochar // *Chemosphere*. 2016. Vol. 44. P. 879–887. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.055>.
7. Richard E., Saichek R. E., Reddy K. R. Electrokinetically enhanced remediation of hydrophobic organic compounds in soils: a review // *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2005. Vol. 35. P. 115–192. <https://doi.org/10.1080/1064338059000237>.
8. Trellu C., Pechaud Y., Oturan N., Mousset E., van Hullebusch E. D., Huguenot D., et al. Remediation of soils contaminated by hydrophobic organic compounds: how to recover extracting agents from soil washing solutions? // *Journal of Hazardous Materials*. 2021. Vol. 404. P. 124–137. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124137>.
9. Ashraf S., Ali Q., Ahmad Z. Z., Ashraf S., Asghar N. H. Phytoremediation: environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019. Vol. 174. P. 714–727. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.068>.
10. Lu H., Wang W., Li F., Zhu L. Mixed-surfactant-enhanced phytoremediation of PAHs in soil: bioavailability of PAHs and responses of microbial community structure // *Science of the Total Environment*. 2019. Vol. 653. P. 658–666. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.385>.
11. Rodriguez-Campos J., Perales-Garcia A., Hernandez-Carballo J., Martinez-Rabelo F., Hernandez-Castellanos B., Barois I., et al. Bioremediation of soil contaminated by hydrocarbons with the combination of three technologies: bioaugmentation, phytoremediation, and vermiremediation // *Journal of Soils and Sediments*. 2019. Vol. 19. P. 1981–1994. <https://doi.org/10.1007/s11368-018-2213-y>.
12. Shi Z., Liu J., Tang Z., Zhao Y., Wang C. Vermiremediation of organically contaminated soils: concepts, current status, and future perspectives // *Applied Soil Ecology*. 2020. Vol. 147. P. 103377. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103377>.
13. Shishir T. A., Mahbub N., Kamal N. E. Review on bioremediation: a tool to resurrect the polluted rivers // *Pollution*. 2019. Vol. 5. P. 555–568. <https://doi.org/10.22059/poll.2019.272339.558>.
14. Villela H. D. M., Pexito R. S., Soriano A. U., Carmo F. L. Microbial bioremediation of oil contaminated seawater: a survey of patent deposits and the characterization of the top genera applied // *Science of the Total Environment*. 2019. Vol. 666. P. 743–758. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.153>.
15. Azubuike C. C., Chikere C. B., Okpokwasili G. C. Bioremediation techniques – classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2016. Vol. 32. P. 1–18. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2137-x>.
16. Vasilyeva G., Kondrashina V., Strijakova E., Ortega-Calvo J. Adsorptive bioremediation of soil highly contaminated with crude oil // *Science of The Total Environment*. 2020. Vol. 706. P. 135739. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135739>.
17. Kang S., Kim G., Choe J. K., Choi Y. Effect of using powdered biochar and surfactant on desorption and biodegradability of phenanthrene sorbed to biochar // *Journal of Hazardous Materials*. 2019. Vol. 371. P. 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.104>.
18. Ghosh I., Mukherji S. Diverse effect of surfactants on pyrene biodegradation by a *Pseudomonas* strain utilizing pyrene by cell surface hydrophobicity induction // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2016. Vol. 10. P. 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.12.010>.

19. Стом Д. И., Богданова И. А., Саксонов М. Н., Толстой В. М., Евтушенко Л. И., Се Б. Ж. Влияние гумата на адгезию клеток и спор микроорганизмов и их десорбцию с гидрофобизированных поверхностей // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология. 2017. Т. 21. С. 31–40.
20. Стом Д. И., Боярова Н. А., Дагуров А. В., Вятчина О. Ф., Саксонов М. Н. Возможные механизмы биологического действия гуминовых веществ // Сибирский медицинский журнал. 2008. Т. 81. № 6. Р. 76–79.
21. Wei W., Ran Z., He H., Zhou K., Huangfu Z., Yu J. Desorption process and morphological analysis of real polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil by the heterogemini surfactant and its mixed systems // Chemosphere. 2020. Vol. 254. P. 126854. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126854>.
22. Yadav M., Shukla A. K., Srivastva N., Upadhyay S. N., Dubey S. K. Utilization of microbial community potential for removal of chlorpyrifos: a review // Critical Reviews in Biotechnology. 2016. Vol. 3. P. 727–742. <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1015958>.
23. Yanto D. H. Y., Tachibana S. Enhanced biodegradation of asphalt in the presence of tween surfactants, Mn^{2+} and H_2O_2 by *Pestalotiopsis* sp. in liquid medium and soil // Chemosphere. 2014. Vol. 10. P. 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.044>.
24. Zhang D., Zhu L. Effects of Tween 80 on the removal, sorption and biodegradation of pyrene by *Klebsiella oxytoca* PYR-1 // Environmental Pollution. 2012. Vol. 16. P. 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.01.036>.
25. Fainerman V. B., Möbius D., Miller R. Studies in interface science // Surfactants. Chemistry, Interfacial Properties, Applications. Amsterdam: Elsevier Science, 2001. 661 p.
26. Raffa P., Wever D. A. Z., Picchioni F., Broekhuis A. A. Polymeric surfactants: synthesis, properties, and links to applications // Chemical Reviews. 2015. Vol. 115. P. 8504–8563. <https://doi.org/10.1021/cr500129h>.
27. Gao Y. Z., Ling W. T., Zhu L. Z., Zhao B. W., Zheng Q. S. Surfactant-enhanced phytoremediation of soils contaminated with hydrophobic organic contaminants: potential and assessment // Pedosphere. 2007. Vol. 7. P. 409–418. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(07\)60050-2](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(07)60050-2).
28. Miller U., Sówka I., Adamiak W. The use of surfactant from the tween group in toluene biofiltration // Archives of Environmental Protection. 2020. Vol. 46. P. 53–57. <https://doi.org/10.24425/aep.2020.133474>.
29. Lv K., Jia K., Yang Y., Huang W., Wu H., Pan W., et al. Effects of additional salts on the interfacial tension of crude oil/zwiterionic gemini surfactant solutions // Journal of Dispersion Science and Technology. 2019. Vol. 40, no. 7. P. 1031–1038. <https://doi.org/10.1080/01932691.2018.1494606>.
30. Farias M. L., Campos E. F., Souza A. L. S., Carvalho M. S. Injection of dilute oil-in-water emulsion as an enhanced oil recovery method for heavy oil: 1D and 3D flow configurations // Transport in Porous Media. 2016. Vol. 113. P. 267–281. <https://doi.org/10.1007/s11242-016-0692-0>.
31. Yu L., Dong M. Z., Ding B. X., Yuan Y. G. Experimental study on the effect of interfacial tension on the conformance control of oil-in-water emulsions in heterogeneous oil sands reservoirs // Chemical Engineering Science. 2018. Vol. 189. P. 165–178. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2018.05.033>.
32. Feng H. S., Kang W. L., Zhang L. M., Chen J., Li Z., Zhou Q., et al. Experimental study on a fine emulsion flooding system to enhance oil recovery for low permeability reservoirs // Journal of Petroleum Science and Engineering. 2018. Vol. 171. P. 974–981. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2018.08.011>.
33. Liu H., Zhang Y., Li Y., Hou J., Liu Y. Influence on emulsification in binary flooding of oil displacement effect // Journal of Dispersion Science and Technology. 2016. Vol. 37. P. 89–96. <https://doi.org/10.1080/01932691.2015.1029583>.
34. Bera A., Kumar T., Ojha K., Mandal A. Screening of microemulsion properties for application in enhanced oil recovery // Fuel. 2014. Vol. 121. P. 198–207. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.12.051>.
35. Bera A., Mandal A., Kumar T. Physicochemical characterization of anionic and cationic microemulsions: water solubilization, particle size distribution, surface tension, and structural parameters // Journal of Chemical & Engineering Data. 2014. Vol. 59. P. 2490–2498. <https://doi.org/10.1021/je500274r>.
36. Kumar N., Mandal A. Thermodynamic and physicochemical properties evaluation for formation and characterization of oil-in-water nanoemulsion // Journal of Molecular Liquids. 2018. Vol. 266. P. 147–159. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.06.069>.
37. Sharma S. C., Warr G. G. Phase behavior, self-assembly, and emulsification of tween 80/water mixtures with limonene and perfluoromethyldecalin // Langmuir. 2012. Vol. 28. P. 11707–11713. <https://doi.org/10.1021/la300942f>.
38. Doryani H., Kazemzadeh Y., Parsaei R., Ma-layeri M. R., Riazi M. Impact of asphaltene and normal paraffins on methane-synthetic oil interfacial tension: an experimental study // Journal of Natural Gas Science and Engineering. 2015. Vol. 26. P. 538–548. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2015.06.048>.
39. Lashkarbolooki M., Ayatollahi S. Effect of asphaltene and resin on interfacial tension of acidic crude oil/sulfate aqueous solution: experimental study // Fluid Phase Equilibria. 2016. Vol. 414. P. 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2016.01.032>.
40. Lashkarbolooki M., Ayatollahi S. Effects of asphaltene, resin and crude oil type on the interfacial tension of crude oil/brine solution // Fuel. 2018. Vol. 223. P. 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.03.029>.
41. Lashkarbolooki M., Ayatollahi S. The effects of pH, acidity, asphaltene and resin fraction on crude oil/water interfacial tension // Journal of Petroleum Science and Engineering. 2018. Vol. 162. P. 341–347. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2017.12.061>.
42. Lashkarbolooki M., Riazi M., Ayatollahi M., Hezave A. Z. Synergy effects of ions, resin, and

- asphaltene on interfacial tension of acidic crude oil and low-high salinity brines // *Fuel*. 2016. Vol. 165. P. 75–85. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.10.030>.
43. Sharma P., Kostarelou K., Palayangoda S. S. Hydrocarbon recovery from oil sands by cyclic surfactant solubilization in single-phase micro-emulsions // *Journal of Energy Resources Technology*. 2019. Vol. 141. P. 085001. <https://doi.org/10.1115/1.4042715>.
44. Masrat R., Maswal M., Dar Ahmad A. Competitive solubilization of naphthalene and pyrene in various micellar systems // *Journal of Hazardous Materials*. 2013. Vol. 244–245. P. 662–670. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.10.057>.
45. Sales P. S., de Rossi R. H., Fernandez M. A. Different behaviours in the solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons in water induced by mixed surfactant solutions // *Chemosphere*. 2011. Vol. 84. P. 1700–1707. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.04.073>.
46. Bidoia E., Montagnoli R. Toxicity and biodegradation testing, methods in pharmacology and toxicology. Totowa: Humana Press, 2018. 394 p.
47. Smulek W., Kaczorek E., Hricoviniova Z. Alkyl xylosides: physico-chemical properties and influence on environmental bacteria cells // *Journal of Surfactants and Detergents*. 2017. Vol. 20. P. 1269–1279. <https://doi.org/10.1007/s11743-017-2012-2>.
48. Wang L., Sha Y., Wu D., Wei Q., Chen D., Yang Sh., et al. Surfactant induces ROS-mediated cell membrane permeabilization for the enhancement of mannate production // *Process Biochemistry*. 2020. Vol. 91. P. 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.12.009>.
49. Ostroumov S. A., Solomonova E. A. Phytotoxicity of a surfactant-containing product towards macrophytes // *Russian Journal of General Chemistry*. 2013. Vol. 83. P. 2614–2617. <https://doi.org/10.1134/S1070363213130057>.
50. Поклонов В. А., Остроумов С. А. Влияние синтетических поверхностно-активных веществ на бобовые культуры // *Экологическая химия*. 2019. Т. 28. № 5. С. 244–249.
51. Al-Jamala O., Al-Jighefee H., Younes H., Abidin R., Al-Asmakh M. A., Radwan A. B. et al. Organ-specific toxicity evaluation of stearamidopropyl dimethylamine (SAPDMA) surfactant using zebrafish embryos // *Science of the Total Environment*. 2020. Vol. 741. P. 140450. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140450>.
52. Cheng M., Zeng G., Huang D., Lai C., Xu P., Zhang Ch., et al. Hydroxyl radicals based advanced oxidation processes (AOPs) for remediation of soils contaminated with organic compounds: a review // *Chemical Engineering Journal*. 2016. Vol. 284. P. 582–598. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.09.001>.
53. Zhou W., Zhu L., Chen B., Tao S., Chiou C. T. Interactions of organic contaminants with mineral-adsorbed surfactants // *Environmental Science & Technology*. 2003. Vol. 37. P. 4001–4006. <https://doi.org/10.1021/es026326k>.
54. Paria S. Surfactant-enhanced remediation of organic contaminated soil and water // *Advances in Colloid and Interface Science*. 2008. Vol. 138. P. 24–58. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2007.11.001>.
55. Aken B. V., Correa P. A., Schnoor J. L. Phytoremediation of polychlorinated biphenyls: new trends and promises // *Environmental Science & Technology*. 2009. Vol. 44. P. 2767–2776. <https://doi.org/10.1021/es902514d>.
56. Mao X., Jiang R., Xiao W., Xiao W., Yu J. Use of surfactants for the remediation of contaminated soils: a review // *Journal of Hazardous Materials*. 2015. Vol. 285. P. 419–435. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.009>.
57. Bradl H. B. Interface science and technology // *Heavy Metals in the Environment: Origin, Interaction and Remediation*. Amsterdam: Elsevier, 2005. 269 p.
58. Mathurasa L., Tongcumpou C., Sabatini D., Luepromchai E. Anionic surfactant enhanced bacterial degradation of tributyltin in soil // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2012. Vol. 75. P. 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.06.027>.
59. Rodrigues A., Nogueira R., Melo L., Brito A. Effect of low concentrations of synthetic surfactants on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) biodegradation // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2013. Vol. 83. P. 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.04.001>.
60. Jafvert C. T., Heath J. K. Sediment- and saturated-soil-associated reactions involving an anionic surfactant (dodecylsulfate). Precipitation and micelle formation // *Environmental Science & Technology*. 1991. Vol. 25, no. 6. P. 1031–1038. <https://doi.org/10.1021/es00018a003>.
61. Wang P., Keller A. A. Particle-size dependent sorption and desorption of pesticides within a water-soil-nonionic surfactant system // *Environmental Science & Technology*. 2008. Vol. 42. P. 3381–3387. <https://doi.org/10.1021/es702732g>.
62. Bautista L. F., Sanz R., Molina M. C., González N., Sánchez D. Effect of different non-ionic surfactants on the biodegradation of PAHs by diverse aerobic bacteria // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2009. Vol. 63. P. 913–922. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.06.013>.
63. Seo Y., Bishop P. L. Influence of nonionic surfactant on attached biofilm formation and phenanthrene bioavailability during simulated surfactant enhanced bioremediation // *Environmental Science & Technology*. 2007. Vol. 41. P. 7107–7113. <https://doi.org/10.1021/es0701154>.
64. Wolf D. C., Gan J. Influence of rhamnolipid biosurfactant and Brij-35 synthetic surfactant on 14C-Pyrene mineralization in soil // *Environmental Pollution*. 2018. Vol. 243. P. 1846–1853. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.031>.
65. Wang S., Poon K., Cai Z. Removal and metabolism of triclosan by three different microalgal species in aquatic environment // *Journal of Hazardous Materials*. 2018. Vol. 342. P. 643–650. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.09.004>.
66. Martínez L. M. T., Kharissova O. V., Khari-sov B. I. Handbook of ecomaterials. New York: Springer, 2019. 46 p.
67. Corcellas C., Eljarrat E., Barceló D. First re-

port of pyrethroid bioaccumulation in wild river fish: a case study in Iberian river basins (Spain) // *Environment International*. 2015. Vol. 75. P. 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.11.007>.

68. Dar M. A., Kaushik G., Villarreal-Chiu J. F. Pollution status and bioremediation of chlorpyrifos in environmental matrices by the application of bacterial communities: a review // *Journal of Environmental Science and Management*. 2019. Vol. 239. P. 124–136. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.048>.

69. Kumar S., Kaushik G., Dar M. A., Nimesh S., López-Chuken U. J., Villarreal-Chiu J. Microbial degradation of organophosphate pesticides: a review // *Pedosphere*. 2018. Vol. 28. P. 190–208. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(18\)60017-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60017-7).

70. Dollinger J., Schacht V. J., Gaus C., Grant S. Effect of surfactant application practices on the vertical transport potential of hydrophobic pesticides in agrosystems // *Chemosphere*. 2018. Vol. 209. P. 78–87. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06>.

71. Singh A. K., Cameotra S. S. Influence of microbial and synthetic surfactant on the biodegradation of atrazine // *Environmental Science and Pollution Research*. 2013. Vol. 21, no. 3. P. 2088–2097. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2127-6>.

72. Rosenberg M. Microbial adhesion to hydrocarbons: twenty-five years of doing MATH // *FEMS Microbiology Letters*. 2006. Vol. 262. P. 129–134. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00291.x>.

73. Banat I. M., Franzetti A., Gandolfi I., Bestetti G., Martinotti M. G., Fracchia L., et al. Microbial biosurfactants production, applications and future potential // *Applied Microbiology Biotechnology*. 2010. Vol. 87. P. 427–444. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2589-0>.

74. Silva E. J., Rocha de Silva N. M., Rufino R. D., Luna J. M., Silva R. O., Sarubbo L. A. Characterization of a biosurfactant produced by *Pseudomonas cepacia* CCT6659 in the presence of industrial wastes and its application in the biodegradation of hydrophobic compounds in soil // *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2014. Vol. 117. P. 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.02.012>.

75. Desai J. D., Banat I. M. Microbial production of surfactants and their commercial potential // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 1997. Vol. 61. P. 47–64. <https://doi.org/10.1128/mmbr.61.1.47-64.1997>.

76. Neu T. R. Significance of bacterial surface-active compounds in interaction of bacteria with interfaces // *Microbiological Reviews*. 1996. Vol. 60. P. 151–166. <https://doi.org/10.1128/mr.60.1.151-166.1996>.

77. Ron E. Z., Rosenberg E. Natural roles of biosurfactants // *Environmental Microbiology*. 2001. Vol. 3, no. 4. P. 229–236. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2001.00190.x>.

78. Timmis K. N. Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology // *Experimental Protocols and Appendices*. Berlin: Springer, 2010. 4637 p.

79. Лыонг Т. М., Нечаева И. А., Петриков К. В., Пунтус И. Ф., Пономарева О. Н. Бактерии-нефтедеструкторы рода *Rhodococcus* – потенциальные

продуценты биосурфактантов // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2016. Т. 6. N 1. С. 50–60.

80. Лыонг Т. М., Нечаева И. А., Петриков К. В., Филонов А. Е., Пономарева О. Н. Структура и физико-химические свойства гликолипидных биосурфактантов, продуцируемых бактериями-нефтедеструкторами *Rhodococcus* sp. X5 // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2017. Т. 7. N 2. С. 72–79. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-2-72-79>.

81. Luong T. M., Ponamareva O. N., Nechaeva I. A., Petrikov K. V., Delean Ya. A., Surin A. K., et al. Characterization of biosurfactants produced by the oil-degrading bacterium *Rhodococcus erythropolis* S67 at low temperature // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2018. Vol. 34, no. 2. P. 20–30. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2401-8>.

82. Лыонг Т. М., Нечаева И. А., Пономарева О. Н., Ву Х. З., Арляпов В. А., Пунтус И. Ф. [и др.]. Влияние температуры на биodeградацию гексадекана бактериями-нефтедеструкторами *Rhodococcus* sp. X5 – эффективными продуцентами гликолипидных биосурфактантов // *Биотехнология*. 2017. N 6. С. 49–56. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2017-33-6-00-00>.

83. Moldes A. B., Paradelo R., Rubinos D., Devesa-Rey R., Cruz J. M., Barral M. T. Ex situ treatment of hydrocarbon-contaminated soil using biosurfactants from *Lactobacillus pentosus* // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011. Vol. 59, no. 17. P. 9443–9447. <https://doi.org/10.1021/jf201807r>.

84. Patel K., Patel M. Improving bioremediation process of petroleum wastewater using biosurfactants producing *Stenotrophomonas* sp. S1VKR-26 and assessment of phytotoxicity // *Bioresource Technology*. 2022. Vol. 315. P. 123861. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123861>.

85. Серебренникова М. К., Головина Е. Э., Куюкина М. С., Ившина И. Б. Консорциум иммобилизованных родококков для очистки нефтепромысловой воды в колоночном биореакторе // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2017. Т. 53. N 4. С. 380–386. <https://doi.org/10.7868/S0555109917040122>.

86. Güçlü-Üstündağ Ö., Mazza G. Saponins: properties, applications and processing, critical reviews in food // *Science and Nutrition*. 2007. Vol. 47. P. 231–258. <https://doi.org/10.1080/10408390600698197>.

87. Kaczorek E., Chrzanowski Ł., Pijanowska A., Olszanowski A. Yeast and bacteria cell hydrophobicity and hydrocarbon biodegradation in the presence of natural surfactants: rhamnolipides and saponins // *Bioresource Technology*. 2008. Vol. 99. P. 4285–4291. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08>.

88. Kobayashi T., Kaminaga H., Navarro R. R., Iimura Y. Application of aqueous saponin on the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons-contaminated soil // *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 2012. Vol. 47. P. 1138–1145. <https://doi.org/10.1080/10934529.2012.668106>.

89. Pijanowska A., Kaczorek E., Chrzanowski Ł.,

Olszanowski A. Cell hydrophobicity of *Pseudomonas* spp. and *Bacillus* spp. bacteria and hydrocarbon biodegradation in the presence of *Quillaya* saponin // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2007. Vol. 23. P. 677–682. <https://doi.org/10.1007/s11274-006-9282-6>.

90. Sun Y., Zou M., Li C., Li X., Mao T., Zheng Ch. The solubilization of naphthalene using tea saponin as a biosurfactant: effect of temperature // *Journal of*

Molecular Liquids. 2021. Vol. 335. P. 116475. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116475>.

91. Davin M., Starren A., Deleu M., Lognay G., Colinet G., Fauconnier M.-L. Could saponins be used to enhance bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aged-contaminated soils? // *Chemosphere*. 2018. Vol. 194. P. 414–421. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017>.

REFERENCES

1. García-Delgado C., Marín-Benito J. M., Sánchez-Martín M. J., Rodríguez-Cruz M. S. Organic carbon nature determines the capacity of organic amendments to adsorb pesticides in soil. *Journal of Hazardous Materials*. 2020;390:122-162. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122162>.

2. Jin M., Yu X., Yao Z., Tao P., Li G., Yu X., et al. How biofilms affect the uptake and fate of hydrophobic organic compounds (HOCs) in microplastic: insights from an in situ study of Xiangshan Bay, China. *Water Research*. 2020;184:116-118. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116118>.

3. Taylor A. C., Fones G. R., Vrana B., Mills G. A. Applications for passive sampling of hydrophobic organic contaminants in water – a review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2021;51(1):20-54. <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1675043>.

4. Trellu C., Mousset E., Pechaud Y., Huguenot D., van Hullebusch E. D., Esposito G., et al. Removal of hydrophobic organic pollutants from soil washing/flushing solutions: a critical review. *Journal of Hazardous Materials*. 2016;306:149-174. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.12.008>.

5. Zeng Z., Liu Y., Zhong H., Xiao R., Zeng G., Liu Z., et al. Mechanisms for rhamnolipids-mediated biodegradation of hydrophobic organic compounds. *Science of the Total Environment*. 2018;634:1-11. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.349>.

6. Kupryianchik D., Hale S., Zimmerman A. R., Harvey O., Rutherford D., Abiven S., et al. Sorption of hydrophobic organic compounds to a diverse suite of carbonaceous materials with emphasis on biochar. *Chemosphere*. 2016;44:879-887. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.055>.

7. Richard E., Saichek R. E., Reddy K. R. Electrokinetically enhanced remediation of hydrophobic organic compounds in soils: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2005;35:115-192. <https://doi.org/10.1080/10643380590900237>.

8. Trellu C., Pechaud Y., Oturan N., Mousset E., van Hullebusch E. D., Huguenot D., et al. Remediation of soils contaminated by hydrophobic organic compounds: how to recover extracting agents from soil washing solutions? *Journal of Hazardous Materials*. 2021;404:124-137. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124137>.

9. Ashraf S., Ali Q., Ahmad Z. Z., Ashraf S., Asghar N. H. Phytoremediation: environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019;174:714-727. <https://doi.org/10.1016/j.eco>

<https://doi.org/10.1016/j.eco>

10. Lu H., Wang W., Li F., Zhu L. Mixed-surfactant-enhanced phytoremediation of PAHs in soil: bioavailability of PAHs and responses of microbial community structure. *Science of the Total Environment*. 2019;653:658-666. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.385>.

11. Rodríguez-Campos J., Perales-García A., Hernández-Carballo J., Martínez-Rabelo F., Hernández-Castellanos B., Barois I., et al. Bioremediation of soil contaminated by hydrocarbons with the combination of three technologies: bioaugmentation, phytoremediation, and vermiremediation. *Journal of Soils and Sediments*. 2019;19:1981-1994. <https://doi.org/10.1007/s11368-018-2213-y>.

12. Shi Z., Liu J., Tang Z., Zhao Y., Wang C. Vermiremediation of organically contaminated soils: concepts, current status, and future perspectives. *Applied Soil Ecology*. 2020;147:103377. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103377>.

13. Shishir T. A., Mahbub N., Kamal N. E. Review on bioremediation: a tool to resurrect the polluted rivers. *Pollution*. 2019;5:555-568. <https://doi.org/10.22059/poll.2019.272339.558>.

14. Villela H. D. M., Pexito R. S., Soriano A. U., Carmo F. L. Microbial bioremediation of oil contaminated seawater: a survey of patent deposits and the characterization of the top genera applied. *Science of the Total Environment*. 2019;666:743-758. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.153>.

15. Azubuike C. C., Chikere C. B., Okpokwasili G. C. Bioremediation techniques – classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2016;32:1-18. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2137-x>.

16. Vasilyeva G., Kondrashina V., Strijakova E., Ortega-Calvo J. Adsorptive bioremediation of soil highly contaminated with crude oil. *Science of The Total Environment*. 2020;706:135739. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135739>.

17. Kang S., Kim G., Choe J. K., Choi Y. Effect of using powdered biochar and surfactant on desorption and biodegradability of phenanthrene sorbed to biochar. *Journal of Hazardous Materials*. 2019;371:253-260. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.104>.

18. Ghosh I., Mukherji S. Diverse effect of surfactants on pyrene biodegradation by a *Pseudomonas* strain utilizing pyrene by cell surface hydrophobicity induction. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2016;10:67-75. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.12.010>.

19. Stom D. I., Bogdanova I. A., Saksonov M. N., Tolstoy V. M., Yevtushenko L. I., Xie B., et al. The influence of humat on adhesion of cells and spores of microorganisms and their desorption from hydrophobized surfaces. *Izvestiya Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya. Ekologiya = Bulletin of Irkutsk State University. Series Biology. Ecology*. 2017;21:31-40. (In Russian).
20. Stom D. I., Boyarova N. A., Dagurov A. V., Vyatchina O. F., Saxonov M. N. The possible mechanisms of humic substances biologic effect. *Sibirskii meditsinskii zhurnal = Siberian Medical Journal*. 2008;81(6):76-79. (In Russian).
21. Wei W., Ran Z., He H., Zhou K., Huangfu Z., Yu J. Desorption process and morphological analysis of real polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil by the heterogemini surfactant and its mixed systems. *Chemosphere*. 2020;254:126854. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126854>.
22. Yadav M., Shukla A. K., Srivastva N., Upadhyay S. N., Dubey S. K. Utilization of microbial community potential for removal of chlorpyrifos: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2016;3:727-742. <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1015958>.
23. Yanto D. H. Y., Tachibana S. Enhanced biodegradation of asphalt in the presence of tween surfactants, Mn^{2+} and H_2O_2 by *Pestalotiopsis sp.* in liquid medium and soil. *Chemosphere*. 2014;10:105-113. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.044>.
24. Zhang D., Zhu L. Effects of Tween 80 on the removal, sorption and biodegradation of pyrene by *Klebsiella oxytoca* PYR-1. *Environmental Pollution*. 2012;16:169-174. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.01.036>.
25. Fainerman V. B., Möbius D., Miller R. Studies in interface science. In: *Surfactants. Chemistry, Interfacial Properties, Applications*. Amsterdam: Elsevier Science; 2001, 661 p.
26. Raffa P., Wever D. A. Z., Picchioni F., Broekhuis A. A. Polymeric surfactants: synthesis, properties, and links to applications. *Chemical Reviews*. 2015;115:8504-8563. <https://doi.org/10.1021/cr500129h>.
27. Gao Y. Z., Ling W. T., Zhu L. Z., Zhao B. W., Zheng Q. S. Surfactant-enhanced phytoremediation of soils contaminated with hydrophobic organic contaminants: potential and assessment. *Pedosphere*. 2007;7:409-418. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(07\)60050-2](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(07)60050-2).
28. Miller U., Sówka I., Adamiak W. The use of surfactant from the tween group in toluene biofiltration. *Archives of Environmental Protection*. 2020;46:53-57. <https://doi.org/10.24425/aep.2020.133474>.
29. Lv K., Jia K., Yang Y., Huang W., Wu H., Pan W., et al. Effects of additional salts on the interfacial tension of crude oil/zwitterionic gemini surfactant solutions. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 2019;40(7):1031-1038. <https://doi.org/10.1080/01932691.2018.1494606>.
30. Farias M. L., Campos E. F., Souza A. L. S., Carvalho M. S. Injection of dilute oil-in-water emulsion as an enhanced oil recovery method for heavy oil: 1D and 3D flow configurations. *Transport in Porous Media*. 2016;113:267-281. <https://doi.org/10.1007/s11242-016-0692-0>.
31. Yu L., Dong M. Z., Ding B. X., Yuan Y. G. Experimental study on the effect of interfacial tension on the conformance control of oil-in-water emulsions in heterogeneous oil sands reservoirs. *Chemical Engineering Science*. 2018;189:165-178. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2018.05.033>.
32. Feng H. S., Kang W. L., Zhang L. M., Chen J., Li Z., Zhou Q., et al. Experimental study on a fine emulsion flooding system to enhance oil recovery for lower permeability reservoirs. *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 2018;171:974-981. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2018.08.011>.
33. Liu H., Zhang Y., Li Y., Hou J., Liu Y. Influence on emulsification in binary flooding of oil displacement effect. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 2016;37:89-96. <https://doi.org/10.1080/01932691.2015.1029583>.
34. Bera A., Kumar T., Ojha K., Mandal A. Screening of microemulsion properties for application in enhanced oil recovery. *Fuel*. 2014;121:198-207. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.12.051>.
35. Bera A., Mandal A., Kumar T. Physicochemical characterization of anionic and cationic microemulsions: water solubilization, particle size distribution, surface tension, and structural parameters. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 2014;59:2490-2498. <https://doi.org/10.1021/je500274r>.
36. Kumar N., Mandal A. Thermodynamic and physicochemical properties evaluation for formation and characterization of oil-in-water nanoemulsion. *Journal of Molecular Liquids*. 2018;266:147-159. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.06.069>.
37. Sharma S. C., Warr G. G. Phase behavior, self-assembly, and emulsification of tween 80/water mixtures with limonene and perfluoromethyldecalin. *Langmuir*. 2012;28:11707-11713. <https://doi.org/10.1021/la300942f>.
38. Doryani H., Kazemzadeh Y., Parsaei R., Malayeri M. R., Riazi M. Impact of asphaltene and normal paraffins on methane-synthetic oil interfacial tension: an experimental study. *Journal of Natural Gas Science and Engineering*. 2015;26:538-548. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2015.06.048>.
39. Lashkarbolooki M., Ayatollahi S. Effect of asphaltene and resin on interfacial tension of acidic crude oil/sulfate aqueous solution: experimental study. *Fluid Phase Equilibria*. 2016;414:149-155. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2016.01.032>.
40. Lashkarbolooki M., Ayatollahi S. Effects of asphaltene, resin and crude oil type on the interfacial tension of crude oil/brine solution. *Fuel*. 2018;223:261-267. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.03.029>.
41. Lashkarbolooki M., Ayatollahi S. The effects of pH, acidity, asphaltene and resin fraction on crude oil/water interfacial tension. *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 2018;162:341-347. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2017.12.061>.
42. Lashkarbolooki M., Riazi M., Ayatollahi M., Hezave A. Z. Synergy effects of ions, resin, and asphaltene on interfacial tension of acidic crude oil

- and low-high salinity brines. *Fuel*. 2016;165:75-85. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.10.030>.
43. Sharma P., Kostarelos K., Palayangoda S. S. Hydrocarbon recovery from oil sands by cyclic surfactant solubilization in single-phase microemulsions. *Journal of Energy Resources Technology*. 2019;141:085001. <https://doi.org/10.1115/1.4042715>.
 44. Masrat R., Maswal M., Dar Ahmad A. Competitive solubilization of naphthalene and pyrene in various micellar systems. *Journal of Hazardous Materials*. 2013;244-245:662-670. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.10.057>.
 45. Sales P. S., de Rossi R. H., Fernandez M. A. Different behaviours in the solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons in water induced by mixed surfactant solutions. *Chemosphere*. 2011;84:1700-1707. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.04.073>.
 46. Bidoia E., Montagnolli R. *Toxicity and biodegradation testing, methods in pharmacology and toxicology*. Totowa: Humana Press; 2018, 394 p.
 47. Smulek W., Kaczorek E., Hricoviniova Z. Alkyl xylosides: physico-chemical properties and influence on environmental bacteria cells. *Journal of Surfactants and Detergents*. 2017;20:1269-1279. <https://doi.org/10.1007/s11743-017-2012-2>.
 48. Wang L., Sha Y., Wu D., Wei Q., Chen D., Yang Sh., et al. Surfactant induces ROS-mediated cell membrane permeabilization for the enhancement of mannate production. *Process Biochemistry*. 2020;91:172-180. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.12.009>.
 49. Ostroumov S. A., Solomonova E. A. Phytotoxicity of a surfactant-containing product towards macrophytes. *Russian Journal of General Chemistry*. 2013;83:2614-2617. <https://doi.org/10.1134/S1070363213130057>.
 50. Poklonov V. A., Ostroumov S. A. Effect of synthetic surfactants for legumes *Lepidium sativum*, *Phaseolus vulgaris*, *Lens culinaris*, and *Vigna radiata*. *Ekologicheskaya khimiya*. 2019;28(5):244-249. (In Russian).
 51. Al-Jamala O., Al-Jighefee H., Younes H., Abdin R., Al-Asmakh M. A., Radwan A. B. et al. Organ-specific toxicity evaluation of stearamidopropyl dimethylamine(SAPDMA) surfactant using zebrafish embryos. *Science of the Total Environment*. 2020;741:140450. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140450>.
 52. Cheng M., Zeng G., Huang D., Lai C., Xu P., Zhang Ch., et al. Hydroxyl radicals based advanced oxidation processes (AOPs) for remediation of soils contaminated with organic compounds: a review. *Chemical Engineering Journal*. 2016;284:582-598. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.09.001>.
 53. Zhou W., Zhu L., Chen B., Tao S., Chiou C. T. Interactions of organic contaminants with mineral-adsorbed surfactants. *Environmental Science & Technology*. 2003;37:4001-4006. <https://doi.org/10.1021/es026326k>.
 54. Paria S. Surfactant-enhanced remediation of organic contaminated soil and water. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2008;138:24-58. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2007.11.001>.
 55. Aken B. V., Correa P. A., Schnoor J. L. Phytoremediation of polychlorinated biphenyls: new trends and promises. *Environmental Science & Technology*. 2009;44:2767-2776. <https://doi.org/10.1021/es902514d>.
 56. Mao X., Jiang R., Xiao W., Xiao W., Yu J. Use of surfactants for the remediation of contaminated soils: a review. *Journal of Hazardous Materials*. 2015;285:419-435. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.009>.
 57. Bradl H. B. Interface science and technology. In: *Heavy Metals in the Environment: Origin, Interaction and Remediation*. Amsterdam: Elsevier; 2005, 269 p.
 58. Mathurasa L., Tongcumpou C., Sabatini D., Luepromchai E. Anionic surfactant enhanced bacterial degradation of tributyltin in soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2012;75:7-14. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.06.027>.
 59. Rodrigues A., Nogueira R., Melo L., Brito A. Effect of low concentrations of synthetic surfactants on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2013;83:48-55. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.04.001>.
 60. Jafvert C. T., Heath J. K. Sediment- and saturated-soil-associated reactions involving an anionic surfactant (dodecylsulfate). Precipitation and micelle formation. *Environmental Science & Technology*. 1991;25(6):1031-1038. <https://doi.org/10.1021/es00018a003>.
 61. Wang P., Keller A. A. Particle-size dependent sorption and desorption of pesticides within a water-soil-nonionic surfactant system. *Environmental Science & Technology*. 2008;42:3381-3387. <https://doi.org/10.1021/es702732g>.
 62. Bautista L. F., Sanz R., Molina M. C., González N., Sánchez D. Effect of different non-ionic surfactants on the biodegradation of PAHs by diverse aerobic bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2009;63:913-922. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.06.013>.
 63. Seo Y., Bishop P. L. Influence of nonionic surfactant on attached biofilm formation and phenanthrene bioavailability during simulated surfactant enhanced bioremediation. *Environmental Science & Technology*. 2007;41:7107-7113. <https://doi.org/10.1021/es0701154>.
 64. Wolf D. C., Gan J. Influence of rhamnolipid biosurfactant and Brij-35 synthetic surfactant on 14C-Pyrene mineralization in soil. *Environmental Pollution*. 2018;243:1846-1853. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.031>.
 65. Wang S., Poon K., Cai Z. Removal and metabolism of triclosan by three different microalgal species in aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*. 2018;342:643-650. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.09.004>.
 66. Martínez L. M. T., Kharissova O. V., Khari-sov B. I. *Handbook of ecomaterials*. New York: Springer; 2019, 46 p.
 67. Corcellas C., Eljarrat E., Barceló D. First report of pyrethroid bioaccumulation in wild river fish: a case study in Iberian river basins (Spain). *Environment International*. 2015;75:110-116. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.06.013>.

envint.2014.11.007.

68. Dar M. A., Kaushik G., Villarreal-Chiu J. F. Pollution status and bioremediation of chlorpyrifos in environmental matrices by the application of bacterial communities: a review. *Journal of Environmental Science and Management*. 2019;239:124-136. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.048>.
69. Kumar S., Kaushik G., Dar M. A., Nimesh S., López-Chuken U. J., Villarreal-Chiu J. Microbial degradation of organophosphate pesticides: a review. *Pedosphere*. 2018;28:190-208. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(18\)60017-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60017-7).
70. Dollinger J., Schacht V. J., Gaus C., Grant S. Effect of surfactant application practices on the vertical transport potential of hydrophobic pesticides in agrosystems. *Chemosphere*. 2018;209:78-87. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06>.
71. Singh A. K., Cameotra S. S. Influence of microbial and synthetic surfactant on the biodegradation of atrazine. *Environmental Science and Pollution Research*. 2013;21(3):2088-2097. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2127-6>.
72. Rosenberg M. Microbial adhesion to hydrocarbons: twenty-five years of doing MATH. *FEMS Microbiology Letters*. 2006;262:129-134. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00291.x>.
73. Banat I. M., Franzetti A., Gandolfi I., Bestetti G., Martinotti M. G., Fracchia L., et al. Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Applied Microbiology Biotechnology*. 2010;87:427-444. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2589-0>.
74. Silva E. J., Rocha de Silva N. M., Rufino R. D., Luna J. M., Silva R. O., Sarubbo L. A. Characterization of a biosurfactant produced by *Pseudomonas cepacia* CCT6659 in the presence of industrial wastes and its application in the biodegradation of hydrophobic compounds in soil. *Colloids Surf Biointerfaces*. 2014;117:36-41. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.02.012>.
75. Desai J. D., Banat I. M. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 1997;61:47-64. <https://doi.org/10.1128/mmbr.61.1.47-64.1997>.
76. Neu T. R. Significance of bacterial surface-active compounds in interaction of bacteria with interfaces. *Microbiological Reviews*. 1996;60:151-166. <https://doi.org/10.1128/mr.60.1.151-166.1996>.
77. Ron E. Z., Rosenberg E. Natural roles of biosurfactants. *Environmental Microbiology*. 2001;3(4):229-236. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2001.00190.x>.
78. Timmis K. N. Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology. In: *Experimental Protocols and Appendices*. Berlin: Springer; 2010, 4637 p.
79. Luong T. M., Nechaeva I. A., Petrikov K. V., Puntus I. F., Ponamareva O. N. Oil-degrading microorganisms of genus *Rhodococcus* – potential producers of biosurfactants. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2016;6(1):50-60. (In Russian).
80. Luong T. M., Nechaeva I. A., Petrikov K. V., Filonov A. E., Ponamareva O. N. Structure and physicochemical properties of glycolipid biosurfactant, produced by oil-degrading bacteria *Rhodococcus* sp. X5. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2017;7(2):72-79. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-2-72-79>.
81. Luong T. M., Ponamareva O. N., Nechaeva I. A., Petrikov K. V., Delean Ya. A., Surin A. K., et al. Characterization of biosurfactants produced by the oil-degrading bacterium *Rhodococcus erythropolis* S67 at low temperature. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2018;34(2):20-30. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2401-8>.
82. Lyong T. M., Nechaeva I. A., Ponamareva O. N., Vu Kh. Z., Arlyapov V. A., Puntus I. F., et al. The effect of temperature on the biodegradation of hexadecane by the oil-destroying bacteria *Rhodococcus* sp. X5 – effective producers of glycolipid biosurfactants. *Biotechnologiya*. 2017;(6):49-56. (In Russian). <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2017-33-6-00-00>.
83. Moldes A. B., Paradelo R., Rubinos D., Devesa-Rey R., Cruz J. M., Barral M. T. Ex situ treatment of hydrocarbon-contaminated soil using biosurfactants from *Lactobacillus pentosus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011;59(17):9443-9447. <https://doi.org/10.1021/jf201807r>.
84. Patel K., Patel M. Improving bioremediation process of petroleum wastewater using biosurfactants producing *Stenotrophomonas* sp. S1VKR-26 and assessment of phytotoxicity. *Bioresource Technology*. 2022;315:123861. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123861>.
85. Serebrennikova M. K., Kuyukina M. S., Ivshina I. B., Golovina E. E. A consortium of immobilized rhodococci for oilfield wastewater treatment in a column bioreactor. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied Biochemistry and Microbiology*. 2017;53(4):380-386. (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0555109917040122>.
86. Güçlü-Üstündağ Ö., Mazza G. Saponins: properties, applications and processing, critical reviews in food. *Science and Nutrition*. 2007;47:231-258. <https://doi.org/10.1080/10408390600698197>.
87. Kaczorek E., Chrzanowski Ł., Pijanowska A., Olszanowski A. Yeast and bacteria cell hydrophobicity and hydrocarbon biodegradation in the presence of natural surfactants: rhamnolipides and saponins. *Bioresource Technology*. 2008;99:4285-4291. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08>.
88. Kobayashi T., Kaminaga H., Navarro R. R., Iimura Y. Application of aqueous saponin on the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons-contaminated soil. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 2012;47:1138-1145. <https://doi.org/10.1080/10934529.2012.668106>.
89. Pijanowska A., Kaczorek E., Chrzanowski Ł., Olszanowski A. Cell hydrophobicity of *Pseudomonas* spp. and *Bacillus* spp. bacteria and hydrocarbon biodegradation in the presence of Quillaya saponin. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2007;23:677-682. <https://doi.org/10.1007/s11274-006-9282-6>.
90. Sun Y., Zou M., Li C., Li X., Mao T., Zheng Ch. The solubilization of naphthalene using tea saponin as a biosurfactant: effect of temperature. *Journal*

of *Molecular Liquids*. 2021;335:116475. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116475>.

91. Davin M., Starren A., Deleu M., Lognay G., Colinet G., Fauconnier M.-L. Could saponins be used

to enhance bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aged-contaminated soils? *Chemosphere*. 2018;194:414-421. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

И. А. Топчий,

аспирант, лаборант-исследователь,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
topchiyi@inbox.ru
<http://orcid.org/0000-0002-9091-4062>

Д. И. Стом,

д.б.н., профессор,
заведующий лабораторией водной токсикологии,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация;
главный научный сотрудник,
Байкальский музей СО РАН,
664520, п. Листвянка, ул. Академическая, 1,
Российская Федерация,
stomd@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9496-2961>

К. Ю. Дони́на,

аспирант,
Байкальский музей СО РАН,
664520, п. Листвянка, ул. Академическая, 1,
Российская Федерация,
kristina.d95@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9795-6794>

С. В. Алферов,

к.х.н., доцент, заведующий лабораторией
экологической и медицинской биотехнологии,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр-т Ленина, 92,
Российская Федерация,
s.v.alferov@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0002-5217-7815>

И. А. Нечаева,

к.б.н., доцент, старший научный сотрудник
лаборатории экологической и медицинской
биотехнологии,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр-т Ленина, 92,
Российская Федерация,
nechaeva1902@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2736-080X>

А. Б. Купчинский,

к.б.н., директор,
Байкальский музей СО РАН,
664520, п. Листвянка, ул. Академическая, 1,
Российская Федерация,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ivan A. Topchiy,

Postgraduate Student,
Research Laboratory Assistant,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
topchiyi@inbox.ru
<http://orcid.org/0000-0002-9091-4062>

Devard I. Stom,

Dr. Sci. (Biology), Professor,
Head of the Laboratory of Aquatic Toxicology,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
Chief Researcher,
Baikal Museum of the SB RAS,
1, Academicheskaya St., Listvyanka, 664520,
Russian Federation,
stomd@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9496-2961>

Kristina Yu. Donina,

Postgraduate Student,
Baikal Museum of the SB RAS,
1, Academicheskaya St., Listvyanka, 664520,
Russian Federation,
kristina.d95@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9795-6794>

Sergey V. Alferov,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Head of the Laboratory of Ecological and Medical
Biotechnology,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
s.v.alferov@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0002-5217-7815>

Irina A. Nechaeva,

Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Senior Researcher,
Laboratory of Ecological and Medical Biotechnology,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
nechaeva1902@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2736-080X>

Alexander B. Kupchinsky,

Cand. Sci. (Biology), Director,
Baikal Museum SB RAS,
1, Academicheskaya St., Listvyanka, 664520,
Russian Federation,

albor67@mail.ru
bm@isc.irk.ru
<http://orcid.org/0000-0001-8884-8636>

Б. Н. Огарков,
д.б.н., профессор,
заведующий кафедрой микробиологии
биолого-почвенного факультета,
заведующий лабораторией экспериментальной
биотехнологии НИИ биологии,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
bornik@bk.ru

Ю. Ю. Петрова,
к.х.н., доцент, директор Института естественных
и технических наук,
Сургутский государственный университет,
628412, г. Сургут, ул. Энергетиков, 22,
Российская Федерация,
petrova_juju@surgu.ru
yyp.71@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3702-2249>

Е. В. Антонова,
к.б.н., доцент,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
antoshki05@rambler.ru
evantonova@id.isu.ru
<http://orcid.org/0000-0002-5681-288X>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 01.03.2022.
Одобрена после рецензирования 14.04.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.*

albor67@mail.ru
bm@isc.irk.ru
<http://orcid.org/0000-0001-8884-8636>

Boris N. Ogarkov,
Dr. Sci. (Biology), Professor,
Head of the Department of Microbiology,
Head of the Laboratory of Experimental
Biotechnology,
Research Institute of Biology,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
bornik@bk.ru

Yulia Yu. Petrova,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Director of the Institute of Natural
and Technical Sciences,
Surgut State University,
22, Energetikov St., Surgut, 628412,
Russian Federation,
petrova_juju@surgu.ru
yyp.71@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3702-2249>

Elena V. Antonova,
Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
antoshki05@rambler.ru
evantonova@id.isu.ru
<http://orcid.org/0000-0002-5681-288X>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.*

Information about the article

*The article was submitted 01.03.2022.
Approved after reviewing 14.04.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.*



Effect of *Althaea rosea* flower gum loaded with *Thymbra spicata* (Zahter) essential oil coating on shelf life and quality of beef patties (Koefta) during cold storage

Alper Baran

Vocational School of Technical Sciences, Atatürk University, Erzurum, Turkey

Corresponding author: Alper Baran, alper.baran@atauni.edu.tr

Abstract. The aim of this research is to determine the effect of *Althaea rosea* flower gum loaded with *Thymbra spicata* essential oils coating on packaged beef patties during cold storage. For this purpose, samples were evaluated in terms of pH, color, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), and microbiological properties. In addition, texture profile analysis (TPA) was performed to evaluate the textural properties of the beef patties. The essential oil treatment to the beef patties had a significant effect ($p < 0.05$) on the pH values at the end of storage. The coating significantly affected the L^* (lightness), a^* (redness) and b^* (yellowness) values ($p < 0.05$). A similar situation was also found for lipid oxidation (1.00 μmol MDA (g)). The coated samples with essential oil-treated had the lowest values of total aerobic bacteria (3.29 log CFU/g), yeast and mold (2.99 log CFU/g), lactic acid bacteria (2.23 log CFU/g), and total psychrophilic bacteria (2.58 log CFU/g). While the effect of the coating on the adhesiveness, gumminess, and chewiness values of the beef patties at the end of storage was significant ($p < 0.05$), it did not affect other textural properties. Current research has shown that *Althaea rosea* flower gum can be used in edible coatings and, when fortified with *Thymbra spicata* essential oil, can be used in muscle foods for preservation and shelf-life extension.

Keywords: edible coating, beef patties, *Thymbra spicata*, *Althaea rosea*, shelf life

For citation: Baran A. Effect of *Althaea rosea* flower gum loaded with *Thymbra spicata* (Zahter) essential oil coating on shelf life and quality of beef patties (Koefta) during cold storage. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):538-546. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-538-546>.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Научная статья
УДК 664

Влияние покрытия из цветочной камеди *Althaea rosea*, обогащенной эфирным маслом *Thymbra spicata* (Zahter), на срок годности и качество говяжьих котлет при хранении в охлажденном виде

Альпер Баран

Профессиональная школа технических наук, Университет Атаатюрк, г. Эрзурум, Турция

Автор, ответственный за переписку: Альпер Баран, alper.baran@atauni.edu.tr

Аннотация. Целью данного исследования является определение влияния покрытия из цветочной камеди *Althaea rosea*, обогащенной эфирным маслом *Thymbra spicata*, на котлеты из говядины во время хранения в охлажденном виде. Для этого образцы оценивали по pH, цветности, содержанию веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (TBARS), и по микробиологическим показателям. Кроме того, для оценки текстурных свойств котлет из говядины был проведен анализ профиля текстуры (TPA). Обработка говяжьих котлет эфирным маслом оказала большое влияние ($p < 0,05$) на значения pH в конце хранения. Покрытие в большей степени воздействовало на значения L^* (яркость), a^* (покраснение) и b^* (желтизна) ($p < 0,05$). Аналогичная картина наблюдалась при исследовании окисления липидов (1,00 мкмоль МДА (г)). Образцы с покрытием, обогащенным эфирным маслом, имели самые низкие значения общего количества аэробных бактерий (3,29 log КОЕ/г), дрожжей и плесени (2,99 log КОЕ/г), молочнокислых бактерий (2,23 log КОЕ/г) и общего количества психрофильных бактерий (2,58 log КОЕ/г). Хотя влияние покрытия на показатели клейкости, липкости и жевательности говяжьих котлет в конце

© Baran A., 2022

хранения было значительным ($p < 0,05$), оно не воздействовало на другие текстурные свойства. Текущие исследования показали, что цветочную камедь Алтея розового можно использовать в съедобных покрытиях, а при обогащении эфирным маслом *Thymbra spicata* ее можно применять в мясных продуктах для сохранения и продления срока годности.

Ключевые слова: съедобное покрытие, котлеты из говядины, *Thymbra spicata*, *Althaea rosea*, срок годности

Для цитирования: Баран А. Влияние покрытия из цветочной камеди *Althaea rosea*, обогащенной эфирным маслом *Thymbra spicata* (Zahter), на срок годности и качество говяжьих котлет при хранении в охлажденном виде // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 538–546. (In English). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-538-546>.

INTRODUCTION

Meat and meat products have an important place in terms of human nutrition due to their nutritional value. In particular, the fact that it contains high protein, vitamins and minerals, as well as being rich and sufficient in essential amino acids, reflects the vital importance of this food product [1]. On the other hand, although the meat obtained from healthy animals under normal conditions is relatively sterile, its microbial load may increase due to animal residues/waste, contaminated tools/equipment, air, water and contamination from infected personnel during the production process. These microorganisms, which can be transmitted at various stages of the meat processing, may include pathogenic bacteria responsible for foodborne illness and spoilage bacteria that cause meat rot [2]. In addition to the negative bacterial effect, lipid oxidation that may occur due to the sensitivity of meat fat to oxidative changes is an important chemical reaction that reduces the nutritional value of meat and meat products. Natural or synthetic antioxidants can be used to prevent and/or minimize these effects [3].

One of the most important ways for meat and meat products to reach consumers safely is packaging. On the other hand, the amount of plastic used for food packaging on a global scale today is estimated to exceed one million tons per year, with an alarming annual growth. As a result, the disposal of plastic materials used in packaging into the environment has been seen as a serious waste problem and the concerns are increasing exponentially every year. Although there is no complete solution to this problem, the use of bio-based polymer packaging materials can be seen as the best alternative in the current circumstances [4]. In the last few years, researchers have demonstrated a wide variety of studies that the use of films and coatings made from biopolymer materials can be effective in extending the shelf life of foods. In this context, biopolymer materials could be synthesized from various organic materials such as carbohydrates, lipids and proteins [5, 6]. Polysaccharides, which are among these substances, are accepted and widely used for such applications due to their good film forming abilities. Being a rich source of polysaccharide materials and known as Hatmi in Turkey, *Althaea rosea* flowers (ARFs) are used in traditional medicine as a sedative, diuretic, antitussive and anti-inflammatory [7]. In particular, the gum content, which forms the polysaccharide structure of ARF, consists of rhamnose (Rha) and galactose (Gal), as well as uronic acids such as glucuronic acid (GlcA) and galacturonic acid (GalA) [8]. Moreover, studies have suggested that ARFs have immune-stimulatory [9], antimicrobial and antioxidant [10] effects. Yekta et al. [11] have obtained the

gum (ARG) required for biofilm preparation by using the ARFs. They suggested the optimum condition of 1.5 % ARG + 50 % glycerol for biofilm preparation.

In the production of edible films and coatings, some natural antimicrobial and antioxidant compounds such as organic acids, nisin, plant extracts and essential oils can be used as additives instead of synthetic preservatives. In particular, the increasing interest of consumers in natural materials leads them to prefer fortified functional foods [12]. Toxic and carcinogenic effects that may be caused by synthetic preservatives overshadow the expected antimicrobial and antioxidant effects. In this context, essential oils (EOs) obtained from various aromatic and medicinal plants stand out as one of the most promising alternatives due to their strong antimicrobial and antioxidant effects [3]. One of these plants, *Thymbra spicata* (Lamiaceae) (*T. spicata*), also known as Zahter, is a plant with economic value used as a spice in foods and traditional medicine, widely found in Southeastern Anatolia and Mediterranean regions of Turkey [13]. In studies, antibacterial, antifungal, antimycobacterial and antioxidant activities of *T. spicata* essential oils (TSEO) containing carvacrol, γ terpinene and p-cymen components have been reported [14–19].

A new research topic that has not yet been explored is the addition of TSEO to the ARG gum-based coating material and the evaluation of related applications in the packaging of real foods (beef patties (koefte)). Therefore, the present study was aimed to investigate the effects of ARG loaded with TSEO coatings on the physicochemical, microbiological and textural properties of beef patties stored at 4 °C for 6 days.

MATERIALS AND METHODS

Materials. Minced beef meat (25 % fat) and NaCl used for beef patties mix were provided from local markets. The *Althaea rosea* flowers for extraction of gum and *Thymbra spicata* (Zahter) were collected from the provinces of Erzurum and Hatay, Turkey, respectively. Glycerol and Tween 80 were purchased by Merck (Darmstadt, Germany).

Gum extraction from *Althaea rosea*. ARG extraction was performed according to the method reported by Yekta et al. [11]. Briefly, the flowers purchased as dried were separated into smaller pieces with the help of a blender. Then, 100 g of flower powder was added to 1 L of ethanol and mixed for 1 h in a magnetic stirrer (Wisd MSH 20-D, Witeg, Germany). The mixture was incubated overnight at room temperature (25 °C). The mixture was then centrifuged at 8000 g for 10 min (Universal 320, Hettich, Germany) and the resulting pellets were treated with acetone. The resulting dry

mass was then mixed with 2 L of distilled water and stirred for 2 h at 65 °C to remove the gum. Ethanol (99 %) was added to precipitate the polysaccharides and the mixture was kept at 4 °C overnight. After incubation, the precipitate was filtered through ordinary filter paper and then lyophilized in a freeze dryer (Free Zone, LabConco, USA).

Isolation and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oil from *T. spicata* (Zahter). Plant material (50 g of *T. spicata*) was combined with 500 mL of water (plant material: water ratio of 1:10 w/v). Essential oil was obtained by conventional hydrodistillation using a Clevenger type apparatus for 3 h. The essential oils were dried by adding anhydrous sodium sulfate and stored in the dark at 4 °C until used in subsequent experiments. TSEO were qualitatively analyzed using a Shimadzu GCMS QP2010 instrument. The conditions were established as Gedikoğlu et al. [15]: the injector and detector temperatures were set at 250 °C. Temperature programming of the oven included an initial hold at 40 °C for 2 min and a rise to 240 °C at 4 °C/min and held for 53 min. Helium was the carrier gas, with a linear velocity of 43.4 cm/s. The samples were diluted with n-hexane (1:10, v/v), and a volume of 1.0 µl was injected into the GC with the injector in the split mode (split ratio: 1:25). The ionization voltage applied was 70 eV (electron volt), with a mass range m/z (mass number/ charge number) of 40–400 amu (atomic mass unit). Identification of volatile components was accomplished by comparison of using the total-ion chromatogram with the commercial libraries (NIST27 and WILEY7) of the GC–MS system. Peak area integration was used for the determination of percentage of combination.

Preparation of Beef patties (Koeffe). Beef patties dough was obtained by adding 2 % NaCl to minced beef containing 25 % fat. After kneading by hand for 5 min, the dough was cut into 25 g pieces, rolled, then shaped and divided into 3 groups.

Preparation of Coating material. The coating material was prepared in a modified form of the method reported by Yekta et al. [11]. In summary, 3 g of ARG was added to 90 mL of distilled water and mixed at 65 °C until completely dissolved. Then glycerol (0.5 g/g ARG) was added as a plasticizer, and solutions were again warmed and stirred at 65 °C for 15 min. Tween 80 (Merck Chemicals Co., Darmstadt, Germany) at a final concentration of 0.4 % (w/v) was added to the solution as an emulsifier to help distribute and completely incorporate the TSEO in film-forming solutions. After 45 min of stirring, TSEO (1.5 % w/v) (determined as the best essential oil concentration for textural and sensorial properties of beef patties in preliminary studies) was added to ARG solution and homogenized at room temperature for 4 min at 13,000 rpm using an Ultra-Turrax homogenizer (Model T-25 Basic; IKA, Staufen, Germany).

Coating. Beef patties were immersed in coating solutions for 5 min and beef patties were removed from the solution and drained for 2 min. Then coated beef patties were dried in incubator at 30 °C for 1 h. Coating process was carried out in a sterile cabinet. The groups of beef patties were designed as no treatment control

(C), ARG loaded with TSEO coating (ARG-TSEO) and ARG coating group (ARG). Prepared beef patties were placed on foam plates coated with stretch film and stored in the refrigerator at 4 °C for 6 days. pH, TBA and color values and microbiological characteristics of beef patties samples were determined during storage. Textural properties of beef patties samples were determined at the end of storage period (6th day).

Physiochemical analysis. The pH values of beef patties samples were measured with a pH 315i (WTW Xylem GmbH, Weilheim, Germany) after homogenization of 10 g sample with 100 ml deionized water for 1 min [20].

Lipid oxidation analysis. The determination of the oxidative rancidity of the samples was determined by 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) analysis. For this purpose, 12 mL of trichloroacetic acid solution was added to 2 g sample and homogenized. The homogenate was filtered through a Whatman 1 filter followed by 3 mL of filtrate added to 3 mL of 0.02 M 2-thiobarbituric acid (TBA) solution. After the mixture was kept in a boiling water bath for 40 min, it was cooled for 5 min in cold water and then centrifuged at 2000 g for 5 min. After centrifugation, the supernatant was measured against blank in a UV–VIS spectrophotometer (DU730, Beckman Coulter Inc., USA) at 530 nm absorbance. The results of TBARS content were expressed as milligrams of malondialdehyde equivalents (MDA) per kilogram of beef patties sample [21].

Microbiological analysis. Ten g of beef patties sample were taken aseptically and suspended in 90 mL sterile physiological saline solution (PSS) (0.85 % w/v) in sterile filter bag. Then the mixture homogenized in a stomacher (IUL Instruments, Barcelona, Spain) for 2 min [22]. A series of 10-fold dilutions for each sample were formed in sterile PSS, and suitable dilution of each sample was spread onto following appropriate selective medium; Tryptone Glucose Yeast Agar (Hi-Media Laboratories, Mumbai, India) for total viable and psychrophilic bacteria, incubated at 30 °C for 48 h and 7 °C for 10 days, respectively; Rose Bengal Chloramphenicol Agar (Hi-Media, India) for yeast and molds, incubated at 25 °C for 72 h, de Man Rogosa Sharpe Agar (Chemsolute, Germany) for Lactic acid bacteria (LAB), anaerobically incubated at 30 °C for 48 h. Colony were counted into log colony forming units per g of sample (log CFU/g).

Color analysis. The colorimetric parameters, including the L*, a*, and b* values, of the beef patties were measured using a colorimeter (CHN Spec, China). Five beef patties were used per treatment and per replicate.

Texture analysis. Texture profile analysis (TPA) was performed according to the procedure of Bourne [23] using a Texture Analyser (TA-XT Plus model, Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, UK) with a trigger force of 5 g. The TPA tests were carried out using a cylindrical probe (SMS P/25; 25 mm diameter compression platen). The probe was 10 mm above the beef patties, and the test speed was 5 mm/sec. The beef patties were compressed twice at 50 % by probe. Hardness, adhesiveness, springiness, cohesiveness, gumminess, chewiness, and resilience of the samples were determined by the Exponent Software.

Statistical analysis. Each experimental group composed of three biological replicates, and each biological replicate included at least two technical replicates to assess experimental accuracy and precision. Statistical analysis of the data obtained in the study was done using SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program. A one-way analysis of variance (ANOVA) with post hoc Tukey studentized range honestly significant difference (HSD) test (Dunnett T3 test for data not following normal distribution).

RESULTS AND DISCUSSION

Essential oil composition. A total of 40 compounds was identified from the GC/MS analysis and their peak area (%) and relative retention indices are shown in Tab. 1. Carvacrol (35.2 %), γ -terpinene (16.30 %), p-cymene (16.29 %), thymol (5.86 %), α -terpinene (5.02 %), and myrcene (4.07 %) were the main components of the essential oil of *T. spicata*. There are differences between the components detected in some studies where TSEO content was investigated and those detected in the current study. In particular, the number of components detected in the current study was relatively higher than in previous studies [17, 19, 24]. It was thought that this situation might have been caused by the extraction method of essential oil, genotype, soil conditions, humidity, temperature and season, harvest time, geographical region and intrinsic (cg/column, condition etc.) factors [25].

Physical parameters. The pH changes in the beef patties samples during the storage period are given in Tab. 2. As seen in the table, pH increased in all samples at the end of the storage period ($p < 0.05$). At the end of the storage period, the pH of the beef patties was between 5.26 and 5.50. The increase observed in the control group beef patties was relatively higher than the coated beef patties. This increase observed in beef patties groups may be due to the accumulation of metabolites and the deamination of proteins due to the activities of bacteria in the meat [12]. On the other hand, it can be said that the relatively lower pH increase observed in the coated beef patties is due to the fact that the essential oils added to the edible coatings affect the gas permeability by decreasing or increasing the CO₂ solubility [26]. As a matter of fact, a similar result was reported by Şen and Kılıç [12] in cooked beef patties with edible coating containing acai powder and matcha extracts. Again, it was reported that the ones coated using rosemary extract remained at the pH level of 5.48 compared to the pH of 6.66 measured in uncoated chicken beef patties [27].

Significant visual changes in meat and meat products can be affected by many factors and ultimately affect consumers' perception of quality and freshness [28]. The changes in L*, a* and b* occurring in the beef patties samples during the storage period are given in Tab. 2. While L* value decreased until the 4th day of storage in all groups, it increased on the 6th day ($p < 0.05$). On the other hand, at the end of the storage period, the L* value was found to be lower in the coated beef patties samples compared to the control group.

This result was consistent with the study investigating the effect of soy-based edible film combined with thyme essential oils in beef patties [29]. Akcan et al. [30] reported that cooked beef patties treated with whey protein edible film combined with *Laurus nobilis* L. and *Salvia officinalis* had higher L* value at the end of the storage period. Redness, measured by the a* value of meat, is one of the most important components in terms of the most important color. Looking at the results in general, this value remained above 10 during the ripening period. On the other hand, a significant

Table 1. Composition determined by GC-MS analysis of the essential oils from *T. spicata* in this study

Таблица 1. Состав эфирных масел *T. spicata*, определенный с помощью анализа ГХ-МС в данном исследовании

Component	Area (%)	RI*
Methyl isovalerate	0.10	773
2,5-diethyltetrahydrofuran	0.02	896
3-methylapopinene	0.02	927
α -thujone	2.30	927
α -pinene	1.96	933
Vinyl amyl carbinol	1.36	978
2,2-Dimethyl-5-methylene norbornane	0.32	954
Sabinene	0.04	972
Beta-pinene	0.52	978
5-Methyl-3-heptanone	0.04	938
Myrcene	4.07	991
3-Octanol	0.60	999
α -phellandrene	0.78	1007
3-Carene	0.37	1009
α -terpinene	5.02	1018
p-cymene	16.29	1025
Beta-phellandrene	1.74	1031
(E)- β -ocimene	0.17	1046
γ -terpinene	16.3	1058
Trans-4-thujanol	0.19	1069
Terpinolene	0.67	1086
Linalool	0.51	1101
cis-4-(Isopropyl)-1-methylcyclohex-2-en-1-ol	0.11	1124
Borneol	0.67	1173
4-Carvomenthenol	2.47	1184
p-cymen-8-ol	0.16	1189
α -terpineol	0.50	1195
cis-Dihydrocarvone	0.27	1198
d-Dihydrocarvone	0.14	1204
cis-3-Hexenyl pentanoate	0.06	1282
Thymol methyl ether	0.11	1239
Carvone	0.09	1246
Thymol	5.86	1293
Carvacrol	35.2	1300
Caryophyllene	3.79	1449
9-epi-(E)-Caryophyllene	0.20	1464
α -humulene	0.19	1454
γ -gurjunene	0.11	1476
Caryophyllene oxide	0.38	1587
Total	100%	

Note. *RI – Retention index.

Table 2. pH and color changes of control and coated beef patties during the storage period (6 day)

Таблица 2. Изменения pH и цвета контрольных и покрытых оболочкой говяжьих котлет в течение периода хранения (6 дней)

Parameter	Group	Day 0	Day 2	Day 4	Day 6
pH	C	5.34±0.02 ^{Aa}	5.09±0.02 ^b	5.42±0.05 ^{Aac}	5.50±0.03 ^{Ac}
	ARG	5.11±0.03 ^{Ba}	5.11±0.05 ^a	5.32±0.02 ^{Bb}	5.34±0.03 ^{Bb}
	ARG-TSEO	5.21±0.03 ^{Cab}	5.17±0.03 ^a	5.25±0.02 ^{Bb}	5.26±0.02 ^{Cb}
L*	C	47.47±0.42 ^{Aa}	44.63±1.70 ^{Ab}	37.33±0.83 ^{ABc}	43.52±0.52 ^{Ab}
	ARG	44.83±0.15 ^{Ba}	42.74±0.44 ^{ABab}	39.99±1.31 ^{Ac}	40.66±1.13 ^{ABbc}
	ARG-TSEO	43.20±0.20 ^{Ca}	41.69±0.72 ^{Bab}	35.35±1.40 ^{Bb}	38.92±1.57 ^{Bc}
a*	C	19.13±0.11 ^{Aa}	20.40±0.38 ^{ab}	18.71±0.52 ^{Aa}	21.48±1.17 ^{Ab}
	ARG	19.69±0.13 ^{Ba}	21.65±1.25 ^b	17.27±0.13 ^{Bc}	13.93±0.41 ^{Bd}
	ARG-TSEO	19.41±0.22 ^{ABa}	21.67±1.59 ^b	16.73±0.16 ^{Bc}	13.53±0.29 ^{Bd}
b*	C	10.11±0.11	9.59±0.30 ^A	9.62±0.32	10.04±0.12 ^A
	ARG	10.12±0.09 ^a	9.54±0.17 ^{Ab}	9.59±0.13 ^b	9.17±0.10 ^{Bc}
	ARG-TSEO	10.12±0.13 ^{ab}	10.63±0.29 ^{Ba}	9.55±0.31 ^b	8.47±0.30 ^{Cc}

Note. *Values are given as mean ± standard deviation. N=3 biological replicates. Different uppercase letters in the same column indicate significant difference during storage while different lowercase letters in the same row indicate significant difference among the samples separately for each parameter (p<0.05). C: Beef patties without coating, ARG: Beef patties with *A. rosea* gum coating, ARG-TSEO: Beef patties with *A. rosea* gum coating loaded with *T. spicata* essential oil.

overall decrease in the a* value of the patties treated with TSEO-containing films was observed during the storage period (p< 0.05). On the last day of storage, beef patties coated with and without TSEO had lower a* values than the control group. This change observed at the end of the storage period has also been reported in edible coated beef patties and meats in different studies [30, 31, 29]. The yellowness (b* value) affected by properties such as pH, water activity and oxidation were generally decreased in all groups (p<0.05). On the other hand, this decrease was more evident in the coated beef patties samples compared to the control group. Kodal Coşkun et al. [29] reported lower b* values in beef patties coated with soy-based edible film combined with thyme essential oils after 12 days of storage compared to the control group.

Lipid oxidation. Lipid oxidation, which is considered as one of the main factors limiting the shelf life of muscle foods, is one of the important quality criteria [27]. In the current study, the lipid oxidation level was measured in terms of thiobarbituric acid (TBA) and is presented in Tab. 3. As seen in the table, TBA values were generally significantly lower in all groups during storage (p<0.05). At the end of storage, the lowest TBA value of 1.00 was observed in ARG-coated beef patties loaded with TSEO. Although this difference was statistically significant, it was found to be lower in ARG coated beef patties without TSEO when compared to the control group (p<0.05). This indicates that ARG films delay oxidation by forming a possible oxygen barrier mechanism. On the other hand, active ingredients such as carvacrol and thymol, which both ARG and TSEO contain, highlight the potential role of edible coating as antioxidative [29]. Similar findings have been reported in different studies in which edible beef

patties coating was applied [30, 29]. It has been suggested that the addition of 0.05, 0.10 and 0.15 % sage to Chinese sausage has lower TBA values compared to controls [32]. Another study [33] reported that the addition of thyme oil (3 %) to raw and cooked pork and beef mince samples significantly reduced TBA values after 12 days at 4 °C. These results are in agreement with our results in the present study.

Microbiological characteristics. The effect of ARG loaded with *T. spicata* essential oils edible coating on the shelf life of packaged beef patties is shown in Fig. The effect of ARG and thyme oil-loaded ARGs on the total aerobic bacteria (TAB) count both during and at the end of the storage period had a significant effect (p<0.05) (Fig. a). The edible coating with ARG showed

Table 3. TBA values of beef patties samples during the storage period

Таблица 3. Содержание тиобарбитуровой кислоты в образцах говяжьих котлет в течение срока хранения

Storage day	Groups		
	C	ARG	ARG-TSEO
0	1.08±0.04 ^A	1.08±0.03 ^A	1.10±0.05 ^A
2	1.18±0.02 ^{Ba}	1.13±0.04 ^{ABa}	0.90±0.04 ^{Bb}
4	1.36±0.01 ^{Ca}	1.21±0.06 ^{Bb}	0.92±0.03 ^{Bc}
6	1.49±0.03 ^{Da}	1.33±0.02 ^{Cb}	1.00±0.04 ^{ABc}

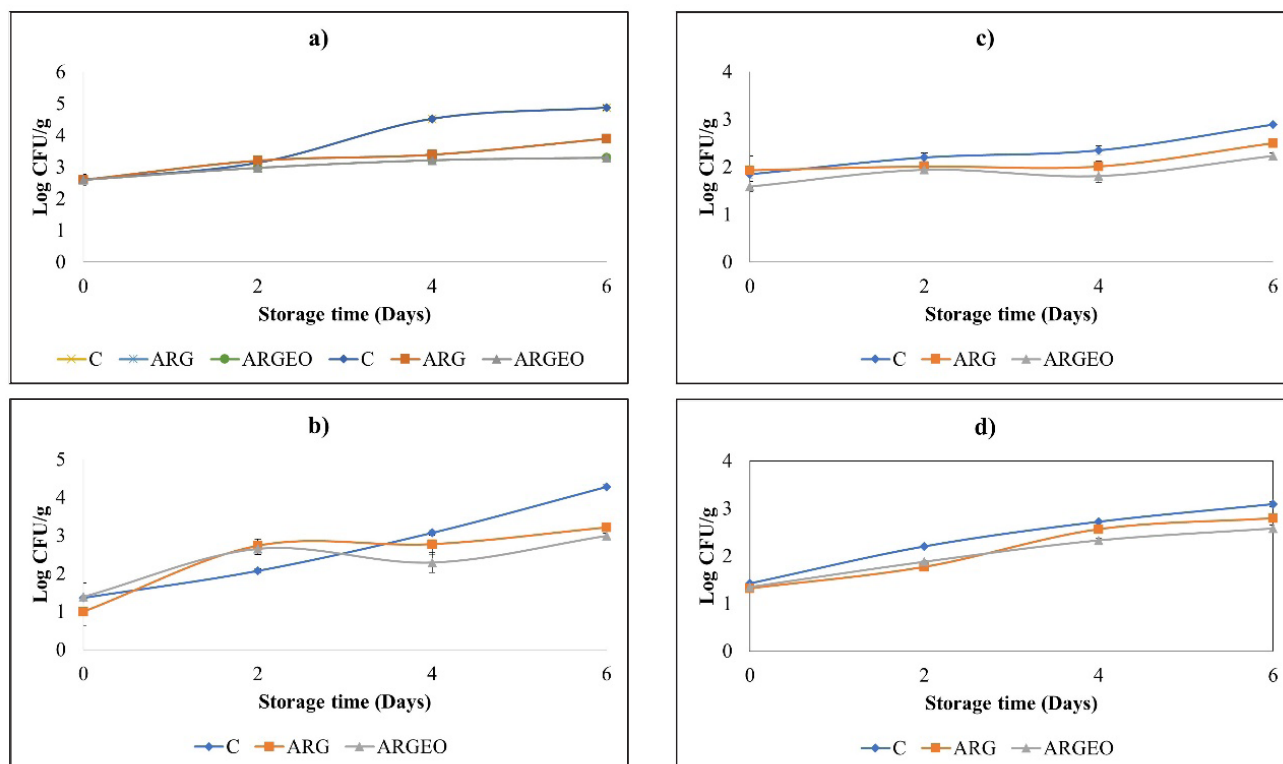
Note. *Values are given as mean ± standard deviation. N=3 biological replicates. Different uppercase letters in the same column indicate significant difference during storage while different lowercase letters in the same row indicate significant difference among the samples separately for each parameter (p<0.05). C: Beef patties without coating, ARG: Beef patties with *A. rosea* gum coating, ARG-TSEO: Beef patties with *A. rosea* gum coating loaded with *T. spicata* essential oil.

an antimicrobial effect against TAB. On the other hand, the antagonistic effect of the essential oil added into the coating on the growth of TAB was found to be higher. The antimicrobial activity of pectin edible coatings prepared by adding *T. spicata* essential oil against TAB on sliced bolognas was reported by Gedikoğlu [34]. Consistent with our present study, Antoniadou et al. [35] reported that the number of TAB decreased significantly in beef patties coated edible with chitosan and this effect existed until the end of the 14-day storage period. It is generally known that when the microbial count in food reaches 10^6 CFU/g, food becomes unacceptable to eat [34]. Based on this information, this value was not reached at the end of the storage period in all groups. However, if the storage period is extended, it can be predicted that especially the control group may be at a level close to this value. This indicates that the edible coating improves the shelf life of the beef patties.

Yeast and mold growth results in the groups are shown in Fig. b. Overall, ARG edible coating loaded with TSEO had a significant ($p < 0.05$) effect on yeast and mold growth compared to the control group. Especially at the end of the storage period, this difference became more pronounced. Again, the use of essential oils in the coating caused an antagonistic effect on the current parameter. At the end of the storage period, the

C treatment had the highest yeast and mold counts at 4.28 log CFU/g, while the ARG and ARGEO treatment had the lower count at 3.21 and 2.99 log CFU/g, respectively. Gedikoğlu [34] reported that, contrary to our results, there was no difference between the number of yeast and mold in the storage period, but at the end of the storage period (25th day), the number of yeast and molds decreased significantly in sliced bolognas coated with pectin fortified with TSEO.

Lactic acid bacteria count of control samples and ARG-coated samples did not differ at day 0 and 2 (Fig. d). However, there was a logarithmic difference of approximately 0.5 in all groups after day 4. This difference was found to be statistically significant at the end of the storage period in the control samples and the samples treated with ARG and ARGEO ($p < 0.05$). Antoniadou et al. [35] reported that LAB counts were lower in chitosan-coated beef patties during the storage period compared to the control group, but there was no difference at the end of the storage period. On the other hand, Gedikoğlu [34] reported that the LAB number (1.72 log CFU/g) of sliced bolognas coated with TSEO loaded pectin was lower than those in the normal coating and control group. In another study [27], it was suggested that the number of LAB obtained from chicken beef patties coated with rosemary essential oil was lower than that of the control group.



Effect of edible coating on microbiological characteristics of beef patties samples: a – total aerobic bacteria; b – yeast and mold; c – psychrophilic bacteria; d – lactic acid bacteria. C: Beef patties without coating; ARG: Beef patties with *A. rosea* gum coating; ARGEO: Beef patties with *A. rosea* gum coating loaded with *T. spicata* essential oil

Влияние съедобного покрытия на микробиологические характеристики образцов котлет из говядины:

a – суммарные аэробные бактерии; b – дрожжевые и плесневые бактерии;

c – психрофильные бактерии; d – молочнокислые бактерии. C: котлеты из говядины без покрытия; ARG: котлеты из говядины с покрытием из камеди *A. rosea*; ARGEO: котлеты из говядины с покрытием из камеди *A. rosea* с добавлением эфирного масла *T. spicata*

Table 4. Texture profile analysis of beef patties

Таблица 4. Анализ текстурного профиля говяжьих котлет

Parameters	Groups		
	C	ARG	ARG-TSEO
Adhesiveness (Ns)	-81.79±30.77 ^A	-28.6±14.49 ^B	-26.11±8.06 ^B
Springiness (mm)	0.96±0.03	0.91±0.06	0.92±0.03
Cohesiveness (Ratio)	0.38±0.03	0.37±0.06	0.38±0.02
Gumminess (N/mm ²)	155.18±25.51 ^A	102.04±28.15 ^B	55.46±32.47 ^B
Chewiness (N.mm)	148.75±28.94 ^A	92.98±28.7 ^B	51.35±30.33 ^B
Resilience (N/mm)	0.06±0.05	0.07±0.01	0.07±0.01

Note. *Values are given as mean ± standard deviation. N=3 biological replicates. Means in the same row not sharing a common superscript are different (p<0.05). C: Beef patties without coating, ARG: Beef patties with *A. rosea* gum coating, ARG-TSEO: Beef patties with *A. rosea* gum coating loaded with *T. spicata* essential oil.

The total number of psychrophilic bacteria, which is accepted as an indicator of food spoilage in cold storage, was found to be between 1.32 and 1.45 in all groups at day 0. At day 6, this value was 3.09 log CFU/g for the control group and 2.79 and 2.58 log CFU/g for the ARG and ARGEO groups, respectively (Fig. d). The values remained below the acceptable limit at the end of the storage period. When the total psychrophilic bacteria numbers were compared between the groups, it was seen that the difference between the control and ARG and ARGEO groups was significant at the end of the storage period (p<0.05). Similar results were also reported by Can and Şahin [27].

Textural features. The texture analysis results of the beef patties samples at the end of the storage period

are given in Tab. 4. There was no difference between the groups in terms of springiness, cohesiveness and resilience parameters. The results obtained showed that the coatings had a softening effect on the beef patties. These differences were found to be statistically significant (p<0.05), adhesiveness was highest in the control and lowest in the ARG and ARGEO groups. It was determined that the highest gumminess and chewiness values were in the control sample on the 6th day. In the control group, these values were determined as 155.18 and 148.75 (N/mm²), respectively. Torusdağ et al. [36] reported that gelatin-based rosemary extract containing edible coatings reached lower chewing and stickiness values in beef patties compared to the control group after 10 days of storage, just like our result. In another study [37], the application of an edible coating enriched with antioxidant and antimicrobial substances to fish fillets at the end of storage, unlike our study, was determined to have the highest springiness.

CONCLUSIONS

The essential oils of *Thymbra spicata* were evaluated for its antioxidant, color, antimicrobial and textural properties in *Althaea rosea* flower gum-based edible coatings for packaged beef patties during cold storage. The application of *T. spicata* essential oil with ARG coating led to some changes in the appearance of beef patties by slight color differences but decreased the pH and lipid oxidation compared with beef patties without coating. Similar observations were detected ARG coated beef patties. On the other hand, when the beef patties coated with ARG loaded with *T. spicata* essential oil were examined in terms of total aerobic bacteria, psychrophilic bacteria, lactic acid bacteria and yeast/mold, it was determined that they had lower numbers. Moreover, the gumminess and chewiness values were higher in both groups of ARG and ARG loaded with *T. spicata* essential oil coating compared to the control group. This study revealed that ARG and ARG loaded with *T. spicata* (Zahter) essential oil coating could be a useful hurdle technology.

REFERENCES

- Bohrer B. M. Nutrient density and nutritional value of meat products and non-meat foods high in protein. *Trends in Food Science and Technology*. 2017;65:103-112. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.016>.
- Sallam K. I., Abd-Elghany S. M., Imre K., Morar A., Herman V., Hussein M. A., et al. Ensuring safety and improving keeping quality of meatballs by addition of sesame oil and sesamol as natural antimicrobial and antioxidant agents. *Food Microbiology*. 2021;99:103834. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103834>.
- Zwolan A., Pietrzak D., Adamczak L., Chmiel M., Florowski T., Kalisz S., et al. Characteristics of water and ethanolic extracts of *Scutellaria baicalensis* root and their effect on color, lipid oxidation, and microbiological quality of chicken meatballs during refrigerated storage. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2022;46(1):e16192.
- Gheorghita R., Gutt G., Amariei S. The use of edible films based on sodium alginate in meat product packaging: an eco-friendly alternative to conventional plastic materials. *Coatings*. 2020;10(2):166. <https://doi.org/10.3390/coatings10020166>.
- Avramescu S. M., Butean C., Popa C. V., Ortan A., Moraru I., Temocico G. Edible and functionalized films/coatings – performances and perspectives. *Coatings*. 2020;10(7):687. <https://doi.org/10.3390/coatings10070687>.
- Galus S., Arik Kibar E. A., Gniewosz M., Kraśniewska K. Novel materials in the preparation of edible films and coatings – a review. *Coatings*. 2020;10(7):674. <https://doi.org/10.3390/coatings10070674>.
- Saçıcı E., Yeşilada E. Proposal for an “*Althaea flos* (marshmallow flower)” monograph set-up based on european pharmacopoeia template and quality evaluation of commercial samples. *ACTA Pharmaceutica Scientia*. 2018;56(1):37-61. <https://doi.org/10.23893/1307-2080.APS.05603>.
- Classen B., Blaschek W. High molecular weight

acidic polysaccharides from *Malva sylvestris* and *Alcea rosea*. *Journal of Planta Medica*. 1998;64(7):640-644. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957538>.

9. Kim Y.-S., Kim E.-K., Nawarathna W. P. A. S., Dong X., Shin W.-B., Park J.-S., et al. Immune-stimulatory effects of *Althaea rosea* flower extracts through the MAPK signaling pathway in RAW264. 7 cells. *Molecules*. 2017;22(5):679. <https://doi.org/10.3390/molecules22050679>.

10. Munira A., Muheta'er T. E., Resalat Y., Xia N. Study on composition, antibiotic activity and antioxidant activity of volatile oils from uyghur medicine *Althaea rosea*. *China Journal of Chinese Materia Medica*. 2015;40(8):1614-1619.

11. Yekta R., Mirmoghadaie L., Hosseini H., Norouzebeigi S., Hosseini S. M., Shojaei-Aliabadi S. Development and characterization of a novel edible film based on *Althaea rosea* flower gum: Investigating the reinforcing effects of bacterial nanocrystalline cellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;158:327-337. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.021>.

12. Şen D. B., Kılıç B. Effects of edible coatings containing acai powder and matcha extracts on shelf life and quality parameters of cooked meatballs. *Meat Science*. 2021;179:108547. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108547>.

13. Erci F., Cakir-Koc R., Isildak I. Green synthesis of silver nanoparticles using *Thymbra spicata* L. var. *spicata* (zahter) aqueous leaf extract and evaluation of their morphology-dependent antibacterial and cytotoxic activity. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2018;46(1):150-158. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1415917>.

14. Eruygur N., Koçyiğit Ü. M., Ataş M., Çevik Ö., Gökalp F., Taslimi P., et al. Composition characterization and biological activity study of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* essential oil. *Cumhuriyet Science Journal*. 2021;42(3):565-575. <https://doi.org/10.17776/csj.911818>.

15. Gedikoğlu A., Sökmen M., Çivit A. Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food Science and Nutrition*. 2019;7(5):1704-1714. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1007>.

16. Kılıç T. Analysis of essential oil composition of *Thymbra spicata* var. *spicata*: antifungal, antibacterial and antimycobacterial activities. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2006;61(5-6):324-328. <https://doi.org/10.1515/znc-2006-5-604>.

17. Kirkan B., Sarikurkcu C., Amarowicz R. Composition, and antioxidant and enzyme-inhibition activities, of essential oils from *Satureja thymbra* and *Thymbra spicata* var. *spicata*. *Flavour and Fragrance Journal*. 2019;34(6):436-442. <https://doi.org/10.1002/ffj.3522>.

18. Mohammed F. S., Şabik A. E., Sevindik E., Pehlivan M., Sevindik M. Determination of antioxidant and oxidant potentials of *Thymbra spicata* collected from duhok-iraq. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*. 2020;8(5):1171-1173. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i5.1171-1173.3341>.

19. Sengun I. Y., Yucel E., Ozturk B., Kilic G. Chem-

ical compositions, total phenolic contents, antimicrobial and antioxidant activities of the extract and essential oil of *Thymbra spicata* L. growing wild in Turkey. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2021;15(1):386-393. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00639-2>.

20. Golge O., Kilincceker O., Koluman A. Effects of different fibers on the quality of chicken meatballs. *Journal of Food Safety and Food Quality*. 2018;69(6):177-183. <https://doi.org/10.2376/0003-925X-69-177>.

21. Bayrak Kul D., Anlar P., Yılmaz Oral Z. F., Kaya M., Kaban G. Furosine and N ϵ -carboxymethyl-lysine in cooked meat product (kavurma): effects of salt and fat levels during storage. *Journal of Stored Products Research*. 2021;93:101856. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2021.101856>.

22. Baran A., Erdoğan A., Kavaz Yüksel A., Adigüzel M. C. Some specific microbiological parameters and prevalence of *Salmonella* spp. in retail chicken meat from Erzurum province, Turkey and characterization of antibiotic resistance of isolates. *Bioscience Journal*. 2019;35(3):878-891. <https://doi.org/10.14393/BJ-v35n3a2019-42187>.

23. Bourne M. C. Texture profile analysis. *Food Technology*. 1978;32:62-66.

24. Ünlü M., Vardar-Ünlü G., Vural N., Dönmez E., Özbaş Z. Y. Chemical composition, antibacterial and antifungal activity of the essential oil of *Thymbra spicata* L. from Turkey. *Natural Product Research*. 2009;23(6):572-579. <https://doi.org/10.1080/14786410802312316>.

25. Ghimire B. K., Yoo J. H., Yu C. Y., Chung I.-M. GC-MS analysis of volatile compounds of *Perilla frutescens* Britton var. *Japonica* accessions: morphological and seasonal variability. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2017;10(7):643-651. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.07.004>.

26. Avena-Bustillos R. J., Krochta J. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium crosslinking and lipid content. *Journal of Food Science*. 1993;58(4):904-907.

27. Can Ö. P., Şahin S. Effect of rosemary essential oil coated vacuum packaging on the quality of chicken meatballs at +4 °C. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science*. 2019;7(12):2165-2169. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i12.2165-2169.2927>.

28. Tomasevic I., Djekic I., Font-I-Furnols M., Terjung N., Lorenzo J. M. Recent advances in meat color research. *Current Opinion in Food Science*. 2021;41:81-87. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.012>.

29. Kodal Coşkun B., Çalikoğlu E., Karagöz Emiroğlu Z., Candoğan K. Antioxidant active packaging with soy edible films and oregano or thyme essential oils for oxidative stability of ground beef patties. *Journal of Food Quality*. 2014;37(3):203-212. <https://doi.org/10.1111/jfq.12089>.

30. Akcan T., Estévez M., Serdaroğlu M. Antioxidant protection of cooked meatballs during frozen storage by whey protein edible films with phytochemicals from *Laurus nobilis* L. and *Salvia officinalis*. *LWT*. 2017;77:323-331. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.051>.

31. Camo J., Beltrán J. A., Roncalés P. Extension of the display life of lamb with an antioxidant active pack-

aging. *Meat Science*. 2008;80(4):1086-1091. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.04.031>.

32. Zhang L., Lin Y., Leng X., Huang M., Zhou G. Effect of sage (*Salvia officinalis*) on the oxidative stability of Chinese-style sausage during refrigerated storage. *Meat Science*. 2013;95(2):145-150. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.005>.

33. Fasseas M., Mountzouris K., Tarantilis P., Polissiou M., Zervas G. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food Chemistry*. 2008;106(3):1188-1194. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.060>.

34. Gedikoğlu A. The effect of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and/or extracts in pectin edible coating on the preservation of sliced bolognas. *Meat Science*. 2022;184:108697. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108697>.

35. Antoniadou D., Govaris A., Ambrosiadis I., Sergelidis D. Effect of chitosan coating on the shelf life of ready-to-eat bovine meatballs and the control of *Listeria monocytogenes* growth on their surface during refrigeration storage. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 2019;70(2):1495-1502. <https://doi.org/10.12681/jhvms.20820>.

36. Torusdağ G. B., Gümüş S., Boran G. Effect of gelatin-based active coatings formulated with rosemary extract on quality of cold stored meatballs. *Food Science and Technology*. 2021;42:27421.

37. Piedrahíta Márquez D. G., Fuenmayor C. A., Suarez Mahecha H. Effect of chitosan-propolis edible coatings on stability of refrigerated cachama (*Piaractus brachipomus*) vacuum packed fish fillets. *Packaging Technology and Science*. 2019;32(3):143-153. <https://doi.org/10.1002/pts.2422>.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Alper Baran,

PhD (Veterinary Food Hygiene and Technology),
Assistant Professor,
Vocational School of Technical Sciences,
Atatürk University,
25240, Erzurum, Turkey,
alper.baran@atauni.edu.tr
<https://orcid.org/0000-0002-3089-6624>

Contribution of the author

The author performed the research, made a generalization on the basis of the results obtained and prepared the copyright for publication.

Conflict interests

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

The author read and approved the final version of the manuscript.

Information about the article

*The article was submitted 30.09.2022.
Approved after reviewing 27.10.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.*

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

А. Баран,

PhD (ветеринарная пищевая гигиена
и технология), доцент,
Профессиональная школа технических наук,
Университет Ататюрка,
25240, г. Эрзурум, Турция,
alper.baran@atauni.edu.tr
<https://orcid.org/0000-0002-3089-6624>

Вклад автора

Автор выполнил исследовательскую работу, на основании полученных результатов провел обобщение, подготовил рукопись к печати.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Автор прочел и одобрил окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

*Поступила в редакцию 30.09.2022.
Одобрена после рецензирования 27.10.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.*

Научная статья

УДК 543.64/544.1:577.112.7

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-547-556>



Молекулярная масса и молекулярно-массовое распределение белка серицина, экстрагированного из отходов коконов *Bombyx mori*

Замира Умаралиевна Шерова, Абубакр Саидкулович Насриддинов,
Шавкат Ёрович Холов, Сураё Рахматжонова Усманова,
Зайниддин Камарович Мухидинов

Институт химии им. В. И. Никитина НАН Республики Таджикистан,

г. Душанбе, Республика Таджикистан

Автор, ответственный за переписку: Мухидинов Зайниддин Камарович, zainy@mail.ru

Аннотация. Серицин шелка представляет собой глобулярный водорастворимый белок, который обволакивает шелковые волокна, склеивая их и обеспечивая сцепление кокона. Выделение серицина из раствора экстракта производилось двумя способами: первый образец получен концентрированием отфильтрованного экстракта при низком давлении (СНД), второй образец – ультрафильтрацией (СУФ) с применением мембраны. В данной работе был использован метод высокоэффективной эксклюзионной жидкостной хроматографии с применением вискозиметрического и рефрактометрического детекторов для определения молекулярной массы и конформации полипептидов серицина, полученного из коконов тутового шелкопряда *Bombyx mori*. Рассмотрены процессы агрегации белка серицина шелка при разных стрессовых условиях его выделения из раствора. Показано, что макромолекулы серицина присутствуют в виде монодисперсного полипептида при низких концентрациях и агрегируются в концентрациях более 1–2 мг/мл. Полученные данные указывают на то, что не только параметры процесса экстракции влияют на молекулярную массу и агрегативное поведение белка, но и условия выделения его из раствора, включая температуру, давление и степень концентрирования. Результаты данной работы подтверждают и дополняют сведения о влиянии различных факторов на ассоциацию белковых макромолекул в растворе и согласуются с данными других авторов. Полученные фракции серицина могут найти множество применений, включая материалы для тканевой инженерии, покрытий для модификации поверхности, среды для культивирования клеток, в косметике, а также в качестве пищевых добавок и медицинских биоматериалов.

Ключевые слова: серицин, молекулярная масса, гидродинамический радиус, агрегация, концентрирование, ультрафильтрация

Для цитирования: Шерова З. У., Насриддинов А. С., Холов Ш. Ё., Усманова С. Р., Мухидинов З. К. Молекулярная масса и молекулярно-массовое распределение белка серицина, экстрагированного из отходов коконов *Bombyx mori* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 547–556. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-547-556>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Molecular weight and molecular weight distribution of sericin protein extracted from cocoon waste of *Bombyx mori*

Zamira U. Sherova, Abubakr S. Nasriddinov, Shavkat E. Kholov,
Surayo R. Usmanova, Zayniddin K. Muhidinov

V. I. Nikitin Institute of Chemistry NAS Republic of Tajikistan,

Dushanbe, Republic of Tajikistan

Corresponding author: Zayniddin K. Muhidinov, zainy@mail.ru

Abstract. Silk sericin comprises a globular water-soluble protein that surrounds silk fibres, sticking them together and providing cocoon adhesion. Sericin was isolated from the extract solution in two ways: the first sample was obtained by concentrating the filtered extract at low pressure (SLP); the second sample was obtained by ultrafiltration (SUF) using a membrane. In this work, the size exclusion-high-performance liquid chromatography involving viscometry and refractive index detectors was used to determine the molecular

weight and conformation of sericin polypeptides obtained from cocoons of the *Bombyx mori* silkworm. The aggregation processes of silk sericin protein under various isolation conditions from the solution were considered. It was shown that sericin macromolecules are present as a monodisperse polypeptide at low concentrations, which aggregates at concentrations greater than 1–2 mg/ml. The obtained data indicate that, along with the parameters of the extraction process, the conditions for its isolation from the solution, including temperature, pressure and degree of concentration, affect the molecular weight and aggregative behaviour of the protein. The results confirm and complement previously obtained data on the influence of various factors on the association of protein macromolecules in solution. The resulting sericin fractions can find many applications, including materials for tissue engineering, coatings for surface modification, cell culture media, cosmetics, as well as food additives and medical biomaterials.

Keywords: sericin, molecular weight, hydrodynamic radius, aggregation, concentration, ultrafiltration

For citation: Sherova Z. U., Nasriddinov A. S., Kholov Sh. E., Usmanova S. R., Muhidinov Z. K. Molecular weight and molecular weight distribution of sericin protein extracted from cocoon waste of *Bombyx mori*. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):547-556. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-547-556>.

ВВЕДЕНИЕ

Многолетняя история использования шелковых нитей в хирургии сделала белок шелка широко известным как биосовместимый материал [1–6]. Белок шелка был обнаружен в железах семейства членистоногих, таких как шелкопряды, пауки и пчелы. Тем не менее большинство биоматериалов на основе шелка получают из шелковых нитей тутового шелкопряда *Bombyx mori* из-за его богатого источника, в частности фиброина и серицина [1, 5, 6].

Кроме того, серицин обладает неотъемлемыми биологическими свойствами, что делает возможным его использование в качестве компонента фармацевтических составов с рядом биомедицинских применений, таких как противоопухолевые, противомикробные препараты, антиоксиданты, и в качестве каркасов для восстановления тканей, серицин также принимает участие в молекулярных механизмах, связанных с регуляцией факторов транскрипции, в снижении воспалительных сигнальных молекул, стимуляции апоптоза, миграции и пролиферации мезенхимальных клеток [6–8].

В последнее время регенерированный фиброин шелка представляется одним из наиболее изученных материалов на основе шелка для тканевой инженерии. Однако он требует сложного процесса подготовки и со временем непреодолимо денатурирует до твердого состояния, что является самой большой проблемой для производства в больших масштабах и широкого использования его в качестве коммерческого материала. Результаты недавних исследований [1–4] показали, что серицин в этом плане может заменить фиброин, быть наиболее подходящим биоматериалом для тканевой инженерии. Выявлено, что серицин способен поглощать УФ-излучения в диапазоне 223–300 нм, ингибировать тирозиназу, противостоять свободным радикалам и сохранять набухаемость аналогично гиалуроновой кислоте, что является важным свойством биоматериала для тканевой инженерии. Авторами [1] на основе клеточного эксперимента на фибробластах человека установлено, что серицин (0,05 масс. %) может стимулировать пролиферацию клеток и, очевидно, повышать экспрессию коллагена типа I, коллагена типа III и гиалуронидазы I по сравнению с контролем через 7 дней,

что может вполне заменить регенерированный фиброин шелка.

Серицин шелка (СШ) представляет собой глобулярный водорастворимый белок, составляющий от 25 до 30% массы белка шелка в коконах тутового шелкопряда. Этот белок обволакивает шелковые волокна, склеивая их и обеспечивая сцепление кокона. Серицин – аморфное семейство белков, преимущественно существует в конформации случайного клубка. СШ представляет собой гидрофильный гликопротеин, в основном состоящий из серина, глицина, аспарагиновой и глютаминовой кислот с различными флавоноидами и каротиноидами, которые действуют как гуммирующие агенты [3, 8].

Молекулярная масса серицина колеблется от 20 до 310 кДа, а его структура и молекулярная масса зависят от метода экстракции и способа его очистки из раствора [3]. Серицин, полученный из водорастворимого компонента шелка тутового шелкопряда, состоит из полипептидов с молекулярной массой 60–130 кДа и особенно богат аспарагиновой кислотой и серином с высоким содержанием гидроксильных, карбоксильных и аминокислотных групп. С другой стороны, фиброин шелка (ФШ), основной компонент шелкового волокна, состоит из полипептидов тяжелой и легкой цепей с молекулярной массой 25–350 кДа, а его аминокислотный состав – в основном из глицина, аланина, серина и высокого содержания тирозина [1].

Абсолютная характеристика белков в растворе важна и желательна в различных отраслях промышленности. Например, в фармацевтике или биотехнологии продукты на белковой основе должны быть однородными и без присутствия агрегатов. Было обнаружено, что химическая агрегация молекул тестируемых соединений – одна из причин получения ложноположительных результатов при скрининге свойств многих новых лекарств [9] среди прочих.

Авторы [10] для определения молекулярной массы ФШ применили простой метод – УФ-спектроскопию. Экспериментально найдена прямая зависимость молекулярной массы от оптической плотности водных растворов ФШ при длине волны 275 нм при различных концентрациях. С использованием значения тангенса угла, прямой линии, полученной по этой зависимости, было определе-

но, что молекулярная масса ФШ равна 411,7 кДа, что намного выше приведенных данных, найденных известной аналитической методикой [1–5].

Расшифровка молекулярной основы неправильной укладки и агрегации белка является важным шагом на пути к полному пониманию факторов, вызывающих возникновение нервных заболеваний, и приводит к разработке эффективных терапевтических стратегий [11]. В связи с этим анализ агрегации белка в растворе предлагает отличный инструмент для изучения патологических процессов нарушения правильных конформаций белка в контролируемых условиях.

Арамвит и соавторы [12] продемонстрировали, что метод экстракции шелка в растворах кислоты, щелочи и мочевины влияет на физические (термическое поведение) и биологические свойства (ингибирование ферментов). Серицин, экстрагированный различными методами, имеет разную молекулярную массу: экстрагированный мочевиной показал четкие полосы с молекулярной массой в диапазоне от 10 до >225 кДа; кислотная и щелочная экстракции – различимые полосы в диапазоне 50–150 кДа и 15–75 кДа соответственно. Экстрагированные образцы серицина отличались дзета-потенциалом (плотность заряда на коллоидных частицах) и размерами частиц: серицин, экстрагированный в щелочном растворе, имел самые большие коллоидные частицы, но низкий отрицательный заряд, в то время как средний размер коллоидных частиц серицина, экстрагированного мочевиной, был низким за счет высокого заряда на поверхности коллоидных частиц. Однако серицин, полученный мочевиной, был токсичным по отношению к живым клеткам фибробласта.

А. Куриока и соавторы [13] также сообщили о различиях в активности белка-ингибитора трипсина, когда экстракция проводилась в водном, кислом и щелочном растворах. Широкий диапазон молекулярной массы серицина от 10 до 400 кДа был получен в работах [14, 15] в зависимости от методов экстракции, температуры, pH и времени отработки.

Ю. Такасу и др. [16] охарактеризовали фракции серицина свежих коконов тутового шелкопряда путем растворения белка в насыщенном водном растворе тиоцианата лития, содержащем 2-меркаптоэтанол. Методом электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия (SDS-PAGE) были обнаружены 3 основных полипептида с молекулярной массой 400, 250 и 150 кДа, что соответствует серицину, присутствующему в средней, передней и задней частях шелковой железы.

В работе [17] щелочной электролизный раствор, содержащий серицин, был разделен ультрафильтрацией на ретентат с широким диапазоном высокомолекулярных фракций, составляющим 10 масс. % оболочки кокона. Далее нанофильтрацией фильтрат был разделен на воду и ретентат, содержащий олигопептиды и свободные аминокислоты, которые можно использовать непосредственно в качестве пищевых добавок или биологических питательных сред. Электрофорез SDS-PAGE и высокоэффективная эксклюзионная жидкостная хроматогра-

фия (ВЭЭЖХ) показали, что молекулярная масса этих пептидов серицина находится в диапазоне 0,2–60; 0,2–30 и 0,2–15 кДа.

Существует большое методологическое разнообразие, позволяющее охарактеризовать состояние белка в растворе. Молекулярные зонды, флуоресценция, определение мутности, светорассеяние и другие представляют собой очень распространенные средства для мониторинга конформационного состояния белка в режиме реального времени [11].

Многоугловое лазерное рассеяние света (МУЛС) является абсолютным методом определения молярной массы биополимеров в растворе [18]. Кроме того, это чрезвычайно чувствительный метод для определения того, насколько макромолекулы образовали какие-либо агрегаты, потому что сигнал, полученный от детектора светорассеяния, прямо пропорционален средней молярной массе (M_w) измеряемого образца, умноженной на его концентрацию.

Различные агрегированные состояния белка были разделены на несколько пиков с помощью ВЭЭЖХ, и анализ молекулярного веса этих пиков был определен детектором МУЛС одновременно. Обнаруженные молекулярные массы по МУЛС очень хорошо коррелировали с известными данными для мономера, димера, тримера и высших олигомеров этого белка. Как и ожидалось, в большинстве буферных систем белок вел себя аналогично необработанному контролю [19]. Однако методом МУЛС было обнаружено, что в 2-х разных мобильных фазах молекулярная масса была ниже или выше, чем ожидалось, что свидетельствует о концентрационной или pH зависимой диссоциации или ассоциации белковых субъединиц.

Понимание влияния структурных изменений и взаимодействий белка на механизмы их агрегации может привести к улучшению стратегий снижения агрегации и вязкости раствора. В данной работе исследована ненативная агрегация белка серицина в условиях его выделения из раствора при повышенных концентрациях. Для определения молекулярной массы и конформационных состояний макромолекулы серицина, полученного из отходов коконов тутового шелкопряда, нами был использован метод ВЭЭЖХ с применением вискозиметрического и рефрактометрического детекторов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В эксперименте использовали серицин, экстрагированный 0,5%-м раствором Na_2CO_3 из коконных оболочек тутового шелкопряда *Bombyx mori* при температуре 80 °C и в течение 30 мин с последующей водной экстракцией при температуре 90 °C в течение 3 ч. Выделение серицина из раствора экстракта производилось двумя способами: первый образец получен концентрированием отфильтрованного экстракта 500 мл при низком давлении (НД) на ротационном испарителе, а второй образец – ультрафильтрацией (УФ) такого же объема с применением плоских мембран УАМ 175, характеризующихся отсечками по молекулярной массе 15–20 кДа. Далее в концентрированный раствор

каждого образца определенного объема добавляли этиловый спирт в соотношении 1/3 и оставляли для осаждения серицина на сутки. Конечная концентрация этанола в смеси составила в среднем $60,0 \pm 1,7\%$. Через сутки осадок серицина отделяли центрифугированием, декантировали спиртом, высушивали при комнатной температуре и измельчали на шаровой мельнице. Полученный таким образом белок назван СНД. Концентрат второго образца, названный СУФ, получали так же, как и в первом случае. Спиртовые растворы упаривали досуха и получали спирторастворимые части белка серицина – образцы ССНД и ССУФ соответственно. Из фильтрата после УФ также получен белок, обозначенный как ФУФ.

Молярную массу (M_w) и молекулярно-массовое распределение (ММР) образцов серицина анализировали на ВЭЭЖХ с помощью системы доставки высокого давления (Waters, США), встроенного 2-канального вакуумного дегазатора, последовательно соединенного с дифференциальным вискозиметром модели ViscoStar (Wyatt Technology, США), дифференциальным рефрактометром (RI 2410, Waters, США), двумя эксклюзионными колонками PL-Aquagel OH-60 и OH-40, системой автоматического введения пробы (717 Plus Auto Injector, Waters, США).

Сухие образцы серицина (~2 мг/мл) растворяли в подвижной фазе (0,05 М NaNO_3), центрифугировали при 20 000 г в течение 30 мин и фильтровали через мембранный фильтр (Millex HV 0,22 мкм, Millipore Corp., США). Скорость потока составляла 0,8 мл/мин, а объем инъекции – 100 мкл. Образцы запускали в 3-кратной повторности.

Выход фракции белка из колонки обнаруживали последовательно с помощью детекторов ViscoStar и RI 2410 (Waters, США). Электронные выходы обоих детекторов были подключены к отдельным последовательным портам одного и того же персонального компьютера таким образом, чтобы данные могли одновременно собираться и обрабатываться программным обеспечением ASTRA 5.3.4.20 (Wyatt Technology, США) и Breeze (Waters, США).

Колонки калибровали с использованием серии стандартных образцов Pullulan (Showa Denko K. K., Япония) со значениями M_w 788; 667; 404; 112; 47,3 и 22,8 кДа соответственно [20]. Значения M_w , M_n и M_z для серицина были получены с использованием универсальной калибровки. Среднее значение приращения показателя преломления (равное 0,185 мл/г) от концентрации (dn/dc) было взято из литературы [21].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные образцы серицина представляли собой мягкие, шелковистые на ощупь однородной консистенции порошки и отличались цветом (табл. 1, рис. 1): сконцентрированные вакуум-выпарным способом и выделенные из спиртового осадка СНД сероватого цвета; образец из спиртового раствора ССНД светло-коричневого цвета; образец, полученный после ультрафильтрации и выделенный из спиртового осадка СУФ, сероватого цвета; об-

разец из спиртового раствора ССУФ коричневого цвета, а серицин, полученный из УФ-фильтрата, темно-коричневого цвета.

Таблица 1. Выход фракций серицина, полученного разными способами

Table 1. Yield of the sericin fraction obtained by different methods

Фракции серицина	(г)	Выход (%)
СНД	4,2569	12,16
ССНД	1,3822	3,95
СУФ	0,4054	1,16
ССУФ	1,8654	5,33
ФУФ	3,0637	8,75
Всего	10,9736	31,35



Рис. 1. Образцы серицина
Fig. 1. Sericin samples

Наибольшая фракция белка получена выпариванием раствора экстракта в виде осадка (12,16%) и растворимой в спирте (3,95%) фракцией. Во втором случае при концентрировании раствора экстракта в УФ-ретентате осаждением спиртом выделено всего 1,16% белка, т. к. в процессе УФ основная часть белка (8,75%) прошла через мембрану, это привело к снижению концентрации белка в ретентате и к низкому выходу в спиртовом осадке. Другая часть белка восстановлена из спиртового раствора (5,33%).

На рис. 2 представлены кривые ВЭЭЖХ, полученные из образцов серицина СНД и СУФ, генерируемые программой ASTRA как зависимости молекулярной массы от объема элюирования. Как видно из профиля хроматограммы ВЭЭЖХ, СНД (красная линия) элюируется в виде 2-х пиков с широким ММР, хотя первый большой пик несимметричен и имеет небольшое плечо в начале. Это говорит о том,

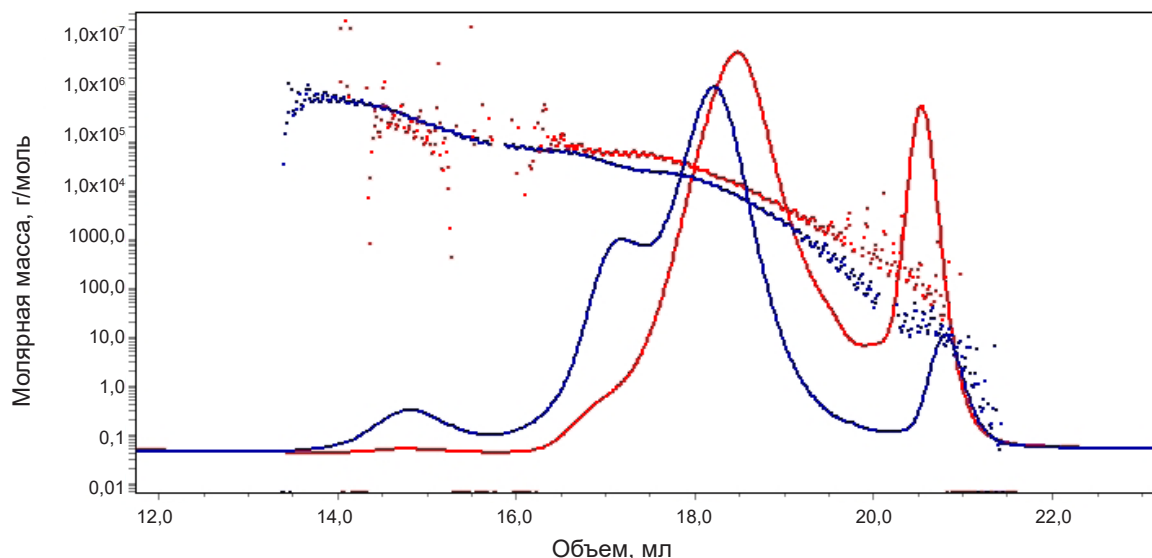


Рис. 2. ВЭЭЖХ профиль элюирования образцов серицина СНД (красная линия) и СУФ (синяя линия) и кривые их молекулярно-массового распределения соответственно

Fig. 2. HPSEC profile of elution of sericin samples SLP (red line) and SUF (blue line) and molecular weight distribution curves, respectively

что в данном образце имеется и третья фракция в небольшом количестве. В то время как профиль элюирования образца СУФ продемонстрировал более четкое разделение 4-х фракций полипептидов серицина в более широкое полимодальное распределение по MMP.

Представленная картина распределения белка по фракциям хорошо видна на кривых дифференциальной зависимости массовой фракции белка от их молекулярной массы (рис. 3), полученной с помощью программы ASTRA. Основная доля фракции полипептидов приходится на среднюю фракцию с молекулярной массой около 20 кДа. ВЭЭЖХ, хроматографический анализ молекулярной массы и MMP серицина, полученный ультрафильтрацией

СУФ при комнатной температуре по сравнению с образцом СНД, полученным вакуум-выпариванием при температуре 50–60 °С, указывают на большой диапазон распределений макромолекул белка по массе. Значения M_w варьируются от менее 1 до более 600 кДа, что указывает на очень широкое распределение значений молекулярной массы в первом образце по сравнению со вторым.

Детальный анализ результатов ВЭЭЖХ, полученных с помощью программы ASTRA, приводится в табл. 2, где представлен выход агрегированных частиц (микрогель – MG, %), полученных центрифугированием исходного раствора белка (2 мг/мл), выход образца из хроматографической колонки (R, %), средневесовая молекулярная масса (M_w , кДа),

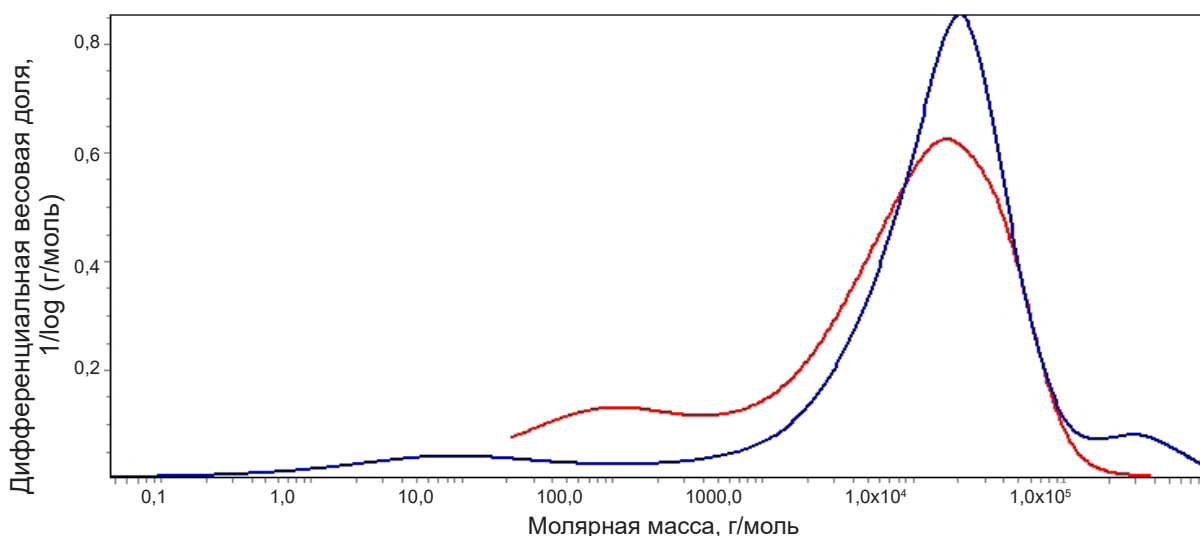


Рис. 3. Дифференциальные кривые распределения образцов серицина СНД (красная линия) и СУФ (синяя линия) по молекулярной массе

Fig. 3. Differential curves of the molecular weight distribution of sericin samples: SLP (red line) and SUF (blue line)

значения полидисперсности для каждой фракции полимера (M_w/M_n), характеристическая вязкость ($[\eta]$) и гидродинамический радиус ($R_h(w)$).

Таблица 2. Выход агрегированных частиц (микродель – MG, %) и образца из хроматографической колонки (R, %), средневесовая молекулярная масса (M_w , кДа), значения полидисперсности (M_w/M_n), характеристическая вязкость ($[\eta]$, мл/г) и гидродинамический радиус ($R_h(w)$, нм) образцов серицина

Table 2. Yield of aggregated particles (microgel – MG, %) and the samples from the chromatographic column (R, %), weight average molecular weight (M_w , kDa), polydispersity index (M_w/M_n), intrinsic viscosity ($[\eta]$, ml/g) and hydrodynamic radius ($R_h(w)$, nm) of sericin samples

Образцы серицина	MG, %	R, %	M_w , кДа	M_w/M_n	$[\eta]$, мл/г	$R_h(w)$, нм
СНД Пик-1		0,10	202,7	1,12	117,6	15,1
СНД Пик-2	39,22	44,30	19,38	3,4	5,7	2,4
СНД Пик-3		15,60	1,74	1,94	0,8	0,3
СУФ Пик -1		3,53	296,8	1,38	69	14,7
СУФ Пик-2	25,34	40,90	19,8	6,1	15	3,4
СУФ Пик-3		4,90	0,12	1,9	2,9	0,2
ССУФ	29,56	72,00	53,10	2,16	7,90	3,30
ФУФ	31,84	63,50	32,90	5,66	3,20	1,90

Значения характеристической вязкости и гидродинамического радиуса для первого образца ССУФ изменялись в соответствии с их M_w . Однако высокое значение индекса полидисперсности, низкие значения характеристической вязкости и гидродинамического радиуса для второго образца ФУФ говорят о его высокой степени агрегации, скорее возникшей при сушке раствора фильтрата.

Все полученные образцы имели высокий процент агрегированных либо денатурированных фракций при нейтральном pH в растворе подвижной фазы (0,05 M NaNO₃), которые были получены с помощью центрифугирования раствора до введения их в колонку ЭЖХ и составили 39,22; 25,34; 29,56 и 31,84% для образцов СНД, СУФ, ССУФ и ФУФ соответственно. Среди данных образцов серицина фракции СНД, выделенные водно-спиртовым раствором, и растворимая фракция в этой смеси имели наибольшее количество агрегированных фракций.

Как и следовало ожидать, из данных, приведенных в табл. 2, оба образца серицина выделяются спиртом в виде 3-х макромолекулярных популяций, которые элюируются при различных объемах (время удерживания на эксклюзивных сорбентах в колонке). Высокомолекулярные (пик 1) и низкомолекулярные фракции (пик 3) представляли небольшую долю макромолекулы белка, молекулярная масса которых соответственно была 202,7 и 1,74 кДа для образца СНД и 296,8 и 0,12 кДа для образца СУФ соответственно. Высокомолекулярные фракции также отличались высокими значениями

характеристической вязкости и гидродинамического радиуса, в то время как низкомолекулярные фракции имели низкие значения этих параметров. Согласно известным данным [1], эти фракции можно отнести к полипептидам тяжелой и легкой цепей макромолекулы ФШ, которые сопутствуют серицину при экстракции.

Основная часть фракции полипептидов серицина, выделенная разными методами, приходится на фракцию, которая элюировалась вторым пиком для обоих образцов и составляла 44,3 и 40,9% от исходного количества растворенного белка серицина. Эти фракции почти не отличались по M_w , полидисперсности и гидродинамическим характеристикам. M_w для этих фракций была почти одинаковой (19,4 и 19,8 кДа), хотя оба образца полидисперсные в отличие от высоко- и низкомолекулярных фракций.

Растворимая в водно-спиртовом растворе фракция представляла собой полипептид с $M_w = 53,1$ кДа и мономодальным ММР. Фракция серицина, прошедшая через мембранный фильтр с пропускающими по массе макромолекулами менее 20 кДа, отличалась от предыдущей фракции полидисперсностью и имела $M_w = 32,9$ кДа. Значения характеристической вязкости и гидродинамического радиуса для первого образца ССУФ изменялись в соответствии с их M_w . Однако высокое значение индекса полидисперсности, низкие значения характеристической вязкости и гидродинамического радиуса для второго образца ФУФ говорят о его высокой степени агрегации, возникшей, скорее всего, при сушке раствора фильтрата.

Биологические свойства, состав и молекулярный размер серицина зависят от метода его получения, а также, как показали данные настоящей работы, и от способа его выделения из раствора. Серицин является своего рода природным водорастворимым белком, его растворимость в растворе зависит от наличия поверхностных гидрофильных групп. При добавлении этанола, который является менее полярным растворителем, чем вода, сначала снижается растворимость высокомолекулярных фракций, происходит их коагуляция, которая захватывает с собой часть и других макромолекул. Данный метод выделения белка является более мягким процессом и широко используется в промышленности, имеет ряд преимуществ по сравнению с низкотемпературными и кислотными методами [22].

Как было показано ранее, серицин, экстрагированный различными методами, имеет разную молекулярную массу: экстрагированный мочевиной показал четкие полосы с молекулярной массой в диапазоне от 10 до >225 кДа; кислотная и щелочная экстракции – полосы в диапазоне 50–150 кДа и 15–75 кДа; экстракция водным раствором тиоцианата лития – 3 основных полипептида с молекулярной массой 400, 250 и 150 кДа соответственно [12–16].

Кроме того, в данной работе нами была оценена форма молекул серицина СНД и СУФ в растворе на основе их молярных масс и гидродинамических радиусов, полученных из характеристической вязкости с помощью программы ASTRA. Наклон кривой

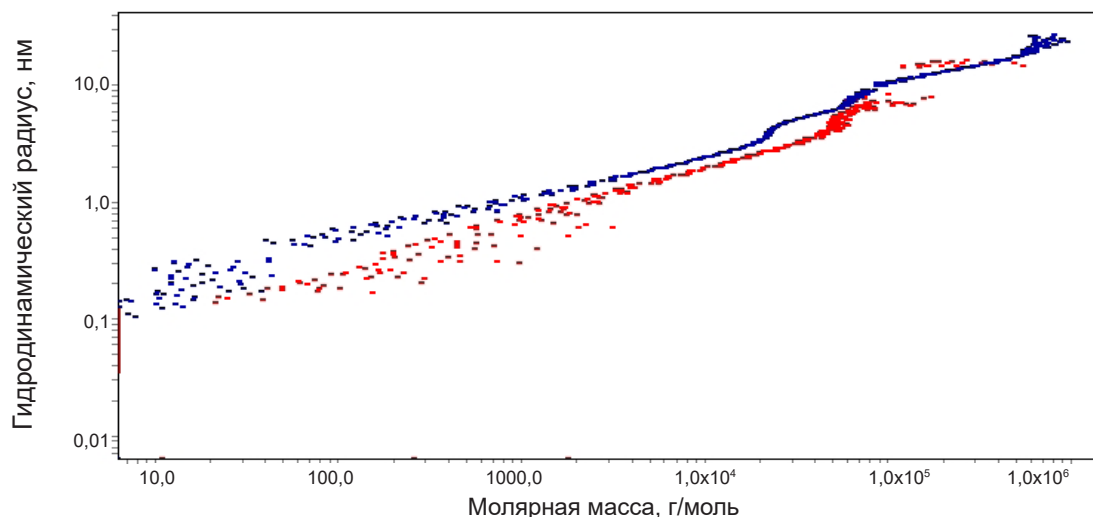


Рис. 4. Зависимость гидродинамического радиуса ($R_h(w)$) от молекулярной массы (конформационный график)

Fig. 4. Hydrodynamic radius ($R_h(w)$) versus molecular weight (conformation plot)

на этом графике (рис. 4) позволяет оценить форму макромолекулы белка [23]. Для серицина СНД и СУФ наклон, равный 0,23 и 0,26 соответственно, указывает на свернутую конформацию белка в сферической форме, что еще раз подтверждает агрегацию данного белка в растворе при исследуемых концентрациях (1–2 мг/мл).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты, полученные в данной работе, подтверждают и дополняют сведения о влиянии различных факторов на ассоциацию белковых макромолекул в растворе. Наши данные указывают на то, что не только параметры процесса экстракции серицина шелка влияют на молекулярную массу и агрегативное поведение белка, но и на условия выделения его из раствора, вклю-

чая температуру, давление и степень концентрирования на УФ-мембране. Как видно из полученных данных, полипептиды серицина присутствуют в виде изолированной β -конформации в низких концентрациях, они агрегированы в концентрациях более 1–2 мг/мл. Данные хорошо согласуются с результатами, полученными другими авторами в работах, которые приводятся во введении.

Производимые таким образом белковые продукты могут найти множество применений, включая материалы для тканевой инженерии, покрытий для модификации поверхности, среды для культивирования клеток и в качестве пищевых добавок. Низкомолекулярные продукты переработки шелковых отходов можно использовать непосредственно в продуктах здорового питания, косметике и медицинских биоматериалах.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Su D., Ding S., Shi W., Huang X., Jiang L. *Bombyx mori* silk-based materials with implication in skin repair: Sericin versus regenerated silk fibroin // *Journal of Biomaterials Applications*. 2019. Vol. 34, no. 1. P. 36–46. <https://doi.org/10.1177/0885328219844978>.
2. Das G., Shin H. S., Campos E. V. R., Fraceto L. F., Rodriguez-Torres M. P., Mariano K. C. F., et al. Sericin based nanoformulations: a comprehensive review on molecular mechanisms of interaction with organisms to biological applications // *Journal of Nanobiotechnology*. 2021. Vol. 19. <https://doi.org/10.1186/s12951-021-00774-y>.
3. Costa F., Silva R., Boccaccini A. Fibrous protein-based biomaterials (silk, keratin, elastin, and resilin proteins) for tissue regeneration and repair // *Peptides and Proteins as Biomaterials for Tissue Regeneration and Repair*. 2018. P. 175–204. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100803-4.00007-3>.
4. Yin Z., Kuang D., Wang S. Swellable silk fibroin microneedles for transdermal drug delivery // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017. Vol. 106. P. 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.178>.
5. Jena K., Pandey J. P., Kumari R. Tasar silk fiber waste sericin: new source for anti-elastase, anti-tyrosinase and anti-oxidant compounds // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018. Vol. 114. P. 1102–1108. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.058>.
6. Kunz R. I., Brancalho R. M., Ribeiro L. F., Natali M. R. M. Silkworm sericin: properties and biomedical applications // *BioMed Research International*. 2016. P. 8175701. <https://doi.org/10.1155/2016/8175701>.
7. Noosak C., Jantorn P., Meesane J., Voravuthikunchai S., Saeloh D. Dualfunctional bioactive silk sericin for osteoblast responses and osteomyelitis treatment // *Plos One*. 2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264795>.
8. Kumar M., Janani G., Fontaine M. J., Kaplan D. L., Mandal B. B. Silk-based encapsulation materials to enhance pancreatic cell functions // *Transplantation, Bioengineering, and Regeneration of the Endocrine Pancreas*. 2020. Vol. 2. P. 329–337. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814831-0.00024-5>.
9. Inoue S., Tsuda H., Tanaka T. Nanostructure of natural fibrous protein: in vitro nanofabric formation

of *Samia cynthia ricini* wild silk fibroin by self-assembling // Nano Letters. 2003. Vol. 3, no. 10. P. 1329–1332. <https://doi.org/10.1021/nl0340327>.

10. Eshchanov K., Baltayeva M. Determination of the molecular mass of hydrolyzed fibroin obtained from natural silk fibroin by spectrophotometry // Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry. 2022. Vol. 9, no. 1. P. 115–120. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.969482>.

11. Villar-Piqué A., Schmitz M., Candelise N., Ventura S., Llorens F., Zerr I. Molecular and clinical aspects of protein aggregation assays in neurodegenerative Diseases // Molecular Neurobiology. 2018. Vol. 55. P. 7588–7605. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0926-y>.

12. Aramwit P., Damringasakkul S., Kanokpanont S., Srichana T. Properties and anti-tyrosinase activity of sericin from various extraction methods // Biotechnology and Applied Biochemistry. 2010. Vol. 55. P. 91–98. <http://doi.org/10.1042/BA20090186>.

13. Kurioka A., Kurioka F., Yamazaki M. Characterization of sericin powder prepared from citric acid degraded sericin polypeptides of silkworm, *Bombyx mori* // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2004. Vol. 68, no. 4. P. 774–780. <https://doi.org/10.1271/bbb.68.774>.

14. Aramwit P., Sirtientong T., Srichana T. Potential applications of silk sericin a natural protein from textile industry by-products // Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy. 2012. Vol. 30, no. 3. P. 217–224. <https://doi.org/10.1177/0734242X11404733>.

15. Gimenes M. L., Silva V. R., Vieira M. G. A., Silva M. G. C., Scheer A. P. High molecular sericin from *Bombyx mori* cocoons: extraction and recovering by ultrafiltration // International Journal of Chemical Engineering and Applications. 2014. Vol. 5, no. 3. P. 266–271. <https://doi.org/10.7763/IJCEA.2014.V5.391>.

16. Takasu Y., Yamada H., Tsubouchi K. Isolation of three main sericin components from the cocoon of the silkworm, *Bombyx mori* // Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 2002. Vol. 66, no. 12. P. 2715–2718. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.2715>.

17. Wu M.-H., Yue J.-X., Zhang Y.-Q. Ultrafiltration recovery of sericin from the alkaline waste of silk floss processing and controlled enzymatic hydrolysis // Journal of Cleaner Production. 2014. Vol. 76. P. 154–160. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.03.068>.

18. Some D., Amartely H., Tsadok A., Lebendiker M. Characterization of proteins by size-exclusion chromatography coupled to multi-angle light scattering (SEC-MALS) // Journal of Visualized Experiments. 2019. Vol. 148. P. e59615. <https://doi.org/10.3791/59615>.

19. Barnett G. V., Perhacs J. M., Das T. K., Kar S. R. Submicron protein particle characterization using resistive pulse sensing and conventional light scattering based approaches // Pharmaceutical Research. 2018. Vol. 35, no. 58. <https://doi.org/10.1007/s11095-017-2306-0>.

20. Muhidinov Z. K., Teshaev Kh., Jonmurodov A., Khalikov D., Fishman M. Physico-chemical characterization of pectic polysaccharides from various sources obtained by steam assisted flash extraction (SAFE) // Macromolecular Symposia. 2012. Vol. 317-318, no. 1. P. 142–148. <https://doi.org/10.1002/masy.201100108>.

21. Strop P., Brunger A. T. Refractive index-based determination of detergent concentration and its application to the study of membrane proteins // Protein Science: a Publication of the Protein Society. 2005. Vol. 14, no. 8. P. 2207–2211. <http://doi.org/10.1110/ps.051543805>.

22. Da Silva T. L., Da Silva Junior A. C., Ribani M., Vieira M. G. A., Gimenes M. L., Da Silva M. G. C. Evaluation of molecular weight distribution of sericin in solutions concentrated via precipitation by ethanol and precipitation by freezing/thawing // Chemical Engineering Transactions. 2014. Vol. 38. P. 103–108. <http://doi.org/10.3303/CET1438018>.

23. Насриддинов А. С., Ашуров А. И., Холов Ш. Ё., Исмоилов И. Б., Усманова С. Р., Мухидинов З. К. Самоагрегирующие свойства инулина в разбавленном растворе // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 38–49. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-38-49>.

REFERENCES

1. Su D., Ding S., Shi W., Huang X., Jiang L. *Bombyx mori* silk-based materials with implication in skin repair: Sericin versus regenerated silk fibroin. *Journal of Biomaterials Applications*. 2019;34(1):36-46. <https://doi.org/10.1177/0885328219844978>.

2. Das G., Shin H. S., Campos E. V. R., Fraceto L. F., Rodriguez-Torres M. P., Mariano K. C. F., et al. Sericin based nanoformulations: a comprehensive review on molecular mechanisms of interaction with organisms to biological applications. *Journal of Nanobiotechnology*. 2021;19. <https://doi.org/10.1186/s12951-021-00774-y>.

3. Costa F., Silva R., Boccaccini A. Fibrous protein-based biomaterials (silk, keratin, elastin, and resilin proteins) for tissue regeneration and repair. *Peptides and Proteins as Biomaterials for Tissue Regeneration and Repair*. 2018;175-204. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100803-4.00007-3>.

4. Yin Z., Kuang D., Wang S. Swellable silk fibroin microneedles for transdermal drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;106:48-56. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.178>.

5. Jena K., Pandey J. P., Kumari R. Tasar silk fiber waste sericin: new source for anti-elastase, anti-tyrosinase and anti-oxidant compounds. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;114:1102-1108. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.058>.

6. Kunz R. I., Brancalhão R. M., Ribeiro L. F., Natali M. R. M. Silkworm sericin: properties and biomedical applications. *BioMed Research International*. 2016;8175701. <https://doi.org/10.1155/2016/8175701>.

7. Noosak C., Jantorn P., Meesane J., Voravuthikunchai S., Saeloh D. Dualfunctional bioactive silk sericin for osteoblast responses and osteomyelitis treatment. *Plos One*. 2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264795>.

8. Kumar M., Janani G., Fontaine M. J., Kaplan D. L., Mandal B. B. Silk-based encapsulation materials to enhance pancreatic cell functions. *Transplantation, Bioengineering, and Regeneration of the Endocrine Pancreas*. 2020;2:329-337. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814831-0.00024-5>.
9. Inoue S., Tsuda H., Tanaka T. Nanostructure of natural fibrous protein: in vitro nanofabric formation of *Samia cynthia ricini* wild silk fibroin by self-assembling. *Nano Letters*. 2003;3(10):1329-1332. <https://doi.org/10.1021/nl0340327>.
10. Eshchanov K., Baltayeva M. Determination of the molecular mass of hydrolyzed fibroin obtained from natural silk fibroin by spectrophotometry. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*. 2022;9(1):115-120. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.969482>.
11. Villar-Piqué A., Schmitz M., Candelise N., Ventura S., Llorens F., Zerr I. Molecular and clinical aspects of protein aggregation assays in neurodegenerative Diseases. *Molecular Neurobiology*. 2018;55:7588-7605. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0926-y>.
12. Aramwit P., Damringasakkul S., Kanokpanont S., Srichana T. Properties and anti-tyrosinase activity of sericin from various extraction methods. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2010;55:91-98. <http://doi.org/10.1042/BA20090186>.
13. Kurioka A., Kurioka F., Yamazaki M. Characterization of sericin powder prepared from citric acid degraded sericin polypeptides of silkworm, *Bombyx mori*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2004;68(4):774-780. <https://doi.org/10.1271/bbb.68.774>.
14. Aramwit P., Sirtientong T., Srichana T. Potential applications of silk sericin a natural protein from textile industry by-products. *Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy*. 2012;30(3):217-224. <https://doi.org/10.1177/0734242X11404733>.
15. Gimenes M. L., Silva V. R., Vieira M. G. A., Silva M. G. C., Scheer A. P. High molecular sericin from *Bombyx mori* cocoons: extraction and recovering by ultrafiltration. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 2014;5(3):266-271. <https://doi.org/10.7763/IJCEA.2014.V5.391>.
16. Takasu Y., Yamada H., Tsubouchi K. Isolation of three main sericin components from the cocoon of the silkworm, *Bombyx mori*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 2002;66(12):2715-2718. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.2715>.
17. Wu M.-H., Yue J.-X., Zhang Y.-Q. Ultrafiltration recovery of sericin from the alkaline waste of silk floss processing and controlled enzymatic hydrolysis. *Journal of Cleaner Production*. 2014;76:154-160. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.03.068>.
18. Some D., Amartely H., Tsadok A., Lebendiker M. Characterization of proteins by size-exclusion chromatography coupled to multi-angle light scattering (SEC-MALS). *Journal of Visualized Experiments*. 2019;148:e59615. <https://doi.org/10.3791/59615>.
19. Barnett G. V., Perhacs J. M., Das T. K., Kar S. R. Submicron protein particle characterization using resistive pulse sensing and conventional light scattering based approaches. *Pharmaceutical Research*. 2018;35(58). <https://doi.org/10.1007/s11095-017-2306-0>.
20. Muhidinov Z. K., Teshayev Kh., Jonmurodov A., Khalikov D., Fishman M. Physico-chemical characterization of pectic polysaccharides from various sources obtained by steam assisted flash extraction (SAFE). *Macromolecular Symposia*. 2012;317-318(1):142-148. <https://doi.org/10.1002/masy.201100108>.
21. Strop P., Brunger A. T. Refractive index-based determination of detergent concentration and its application to the study of membrane proteins. *Protein Science: a Publication of the Protein Society*. 2005;14(8):2207-2211. <http://doi.org/10.1110/ps.051543805>.
22. Da Silva T. L., Da Silva Junior A. C., Ribani M., Vieira M. G. A., Gimenes M. L., Da Silva M. G. C. Evaluation of molecular weight distribution of sericin in solutions concentrated via precipitation by ethanol and precipitation by freezing/thawing. *Chemical Engineering Transactions*. 2014;38:103-108. <http://doi.org/10.3303/CET1438018>.
23. Nasriddinov A. S., Ashurov A. I., Kholov Sh. E., Ismoilov I. B., Usmanova S. R., Mukhidinov Z. K. Self-aggregating properties of inulin in a dilute solution. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Bio-tekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):38-49. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-38-49>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

З. У. Шерова,
докторант,
Институт химии им. В. И. Никитина НАН
Республики Таджикистан,
734065, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2,
Республика Таджикистан,
sh.zamira_95@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0387-6297>

А. С. Насриддинов,
к.х.н., докторант,
Институт химии им. В. И. Никитина НАН
Республики Таджикистан,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Zamira U. Sherova,
Doctoral Student,
V. I. Nikitin Institute of Chemistry NAS
of the Republic of Tajikistan,
299/2, Aini St., 734063, Dushanbe,
Republic of Tajikistan,
sh.zamira_95@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0387-6297>

Abubakr S. Nasriddinov,
Cand. Sci. (Chemistry), Doctoral Student,
V. I. Nikitin Institute of Chemistry NAS
of the Republic of Tajikistan,

734065, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2,
Республика Таджикистан,
abubakr2583@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9897-2451>

Ш. Ё. Холов,
к.т.н., ведущий научный сотрудник,
Институт химии им. В. И. Никитина НАН
Республики Таджикистан,
734065, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2,
Республика Таджикистан,
shavkat.kholov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5601-3255>

С. Р. Усманова,
к.х.н., ведущий научный сотрудник,
Институт химии им. В. И. Никитина НАН
Республики Таджикистан,
734065, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2,
Республика Таджикистан,
surayo.usmanova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-4254-7699>

З. К. Мухидинов,
д.х.н., профессор, главный научный сотрудник,
Институт химии им. В. И. Никитина НАН
Республики Таджикистан,
734065, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2,
Республика Таджикистан,
zainy@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0023-2229>

299/2, Aini St., 734063, Dushanbe,
Republic of Tajikistan,
abubakr2583@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9897-2451>

Shavkat E. Kholov,
Cand. Sci. (Engineering), Leading Researcher,
V. I. Nikitin Institute of Chemistry NAS
of the Republic of Tajikistan,
299/2, Aini St., 734063, Dushanbe,
Republic of Tajikistan,
shavkat.kholov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5601-3255>

Surayo R. Usmanova,
Cand. Sci. (Chemistry), Leading Researcher,
V. I. Nikitin Institute of Chemistry NAS
of the Republic of Tajikistan,
299/2, Aini St., 734063, Dushanbe,
Republic of Tajikistan,
surayo.usmanova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-4254-7699>

Zayniddin K. Muhidinov,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Chief Researcher,
V. I. Nikitin Institute of Chemistry NAS of the
Republic of Tajikistan,
299/2, Aini St., 734063, Dushanbe,
Republic of Tajikistan,
zainy@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0023-2229>

Вклад авторов

З. У. Шерова – проведение экспериментов; обработка полученных данных.
А. С. Насриддинов – научное руководство; получение и обработка полученных данных.
Ш. Ё. Холов – проведение экспериментов; обработка полученных данных.
Усманова С. Р. – концепция исследования; доработка текста.
З. К. Мухидинов – научное руководство; концепция исследования; развитие методологии; итоговые выводы.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 30.09.2022.
Одобрена после рецензирования 23.10.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.

Contribution of the authors

Z. U. Sherova – conducting experiments; processing of received data.
A. S. Nasriddinov – scientific leadership; receiving and processing of received data.
Sh. E. Kholov – conducting experiments; processing of received data.
S. R. Usmanova – research concept; text revision.
Z. K. Muhidinov – scientific leadership; research concept; methodology development; final conclusions.

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.

Information about the article

The article was submitted 30.09.2022.
Approved after reviewing 23.10.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.

Научная статья

УДК 579.26:579.6

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-557-565>



Влияние штаммов *Bacillus thuringiensis* на ростовые и метаболические процессы в проростках *Pisum sativum* L.

Анастасия Владимировна Крыжко, Наталья Николаевна Смаглий

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма,

г. Симферополь, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Крыжко Анастасия Владимировна, kryzhko_a@niishk.ru

Аннотация. Энтомопатогенные бактерии *Bacillus thuringiensis* Berliner являются широко известным биоагентом препаратов для регуляции численности листогрызущих насекомых-вредителей сельскохозяйственных и декоративных культур. Помимо энтомопатогенных свойств, перспективно изучение и других агрономически полезных свойств данного микроорганизма. Целью наших исследований было рассмотрение ростстимулирующего эффекта энтомопатогенных штаммов *B. thuringiensis* на растения гороха сорта Девиз. Материалом для исследований послужили энтомопатогенные штаммы *B. thuringiensis* 685, 926 и 109-С, полученные из Крымской коллекции микроорганизмов Научно-исследовательского института сельского хозяйства Крыма, зарегистрированной на сайте (<http://www.ckp-rf.ru>) под номером 507484. Морфометрические параметры проростков гороха оценивали согласно стандартным методикам. Биохимические показатели проростков гороха определяли в 10-суточных проростках. Активность амилазы проростков гороха определяли фотокалориметрически, общую кислотность – титрованием с 0,1 н раствора NaOH, суммарное содержание водорастворимых фенольных соединений – титриметрическим методом Левенталя. Установлено, что жидкая споровая культура штаммов *B. thuringiensis* 685, 926 и 109-С оказывала стимулирующее воздействие на длину корня и стебля проростка, на вес 10-суточных проростков гороха сорта Девиз. Обработка споровой суспензией всех исследованных штаммов *B. thuringiensis* способствовала увеличению содержания органических кислот в проростках в среднем на 12,4% в сравнении с контролем. Максимальное стимулирующее действие на амилитическую активность и синтез фенольных соединений в проростках гороха сорта Девиз оказывала обработка споровой суспензией штамма *B. thuringiensis* 926. Активность амилаз увеличивалась в среднем на 41,5% к контролю, а суммарное содержание фенольных соединений в данном варианте было в 2,3 раза выше, чем в контроле. Таким образом, принимая во внимание энтомопатогенные свойства и полученные данные о ростстимулирующей активности штаммов *B. thuringiensis* можно заключить, что данные бактерии имеют дополнительный потенциал для их использования в сельском хозяйстве в качестве агента биопрепарата для защиты растений комплексного действия.

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*, ростстимуляция, горох, морфометрические параметры, амилаза, общая кислотность, фенольные соединения

Для цитирования: Крыжко А. В., Смаглий Н. Н. Влияние штаммов *Bacillus thuringiensis* на ростовые и метаболические процессы в проростках *Pisum sativum* L. // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 557–565. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-557-565>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Effect of *Bacillus thuringiensis* strains on growth and metabolic processes in *Pisum sativum* L. sprouts

Anastasiia V. Kryzhko, Natalia N. Smaglyi

Institute of Agriculture of Crimea, Simferopol, Russian Federation

Corresponding author: Anastasiia V. Kryzhko, kryzhko_a@niishk.ru

Abstract. Although the entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* Berliner are well-known bio-agents for regulating the population of leaf-eating pests of agricultural and ornamental crops, other agricultural properties of this microorganism are promising. In this work, the growth-stimulating effect of entomopathogenic strains of *B. thuringiensis* on Deviz pea plants was studied. The entomopathogenic strains *B. thuringiensis* 685, 926 and 109-C obtained from the Crimean Collection of Microorganisms of the Crimean Agricultural Research Institute, registered online (<http://www.ckp-rf.ru>) with number 507484, were used as research material. The morphometric parameters of pea sprouts were evaluated following standard methods. Biochemical parameters

of pea sprouts were determined for 10-day-old sprouts. The amylase activity of pea sprouts was determined by photocalorimetry; total acidity was measured by titration using 0.1 n NaOH solution; total water-soluble phenolic compounds were determined by Leventhal titrimetric method. It was found that liquid spore culture of strains *B. thuringiensis* 685, 926 and 109-C had a stimulating effect on the length of root and stem and the weight of 10-day-old sprouts of Deviz pea variety. Treatment with a spore suspension of all tested strains *B. thuringiensis* led to an increase in the content of organic acids in the sprouts by an average of 12.4% compared with that of the control. Maximum stimulating effect on amylolytic activity and synthesis of phenolic compounds in Deviz pea sprouts was achieved by treating with a spore suspension of the strain *B. thuringiensis* 926. The amylase activity increased on average by 41.5% when compared to that of the control, while the total content of phenolic compounds in this experiment was 2.3 times higher than that of the control. Therefore, in light of the entomopathogenic properties and the obtained data on the growth-stimulating activity of the strains of *B. thuringiensis*, it can be concluded that these bacteria have additional potential for their use in agriculture as a bio-agent for plant protection having a complex action.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, growth stimulation, peas, morphometric parameters, amylase, total acidity, phenolic compounds

For citation: Kryzhko A. V., Smaglyi N. N. Effect of *Bacillus thuringiensis* strains on growth and metabolic processes in *Pisum sativum* L. sprouts. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):557-565. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-557-565>.

ВВЕДЕНИЕ

Энтомопатогенные бактерии *Bacillus thuringiensis* являются широко известным биоагентом препаратов для регуляции численности листогрызущих насекомых-вредителей сельскохозяйственных и декоративных культур. Известно, что препараты на основе *B. thuringiensis* безопасны для компонентов агробиоценоза, их можно применять в любую фазу вегетации как на вегетативных, так и на генеративных органах растений [1]. Широким спектром исследований [2–4] установлена безопасность таких биоинсектицидов для теплокровных животных, человека [5], энтомофагов, а также способность быстро (в течение 3–4 недель) разрушаться в естественных условиях [6, 7]. Помимо энтомопатогенных, перспективно изучение и других агрономически полезных свойств данного микроорганизма.

Бактерии, принадлежащие к роду *Bacillus*, в частности *B. thuringiensis*, в настоящее время считают ассоциированными с растениями и относят к группе PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) [8, 9]. *B. thuringiensis* выступает распространенным эндофитом [10], также индуцирует устойчивость растений к патогенам, взаимодействуя с корневой системой [11]. Некоторые штаммы *B. thuringiensis*, колонизируя корни, способствуют стимуляции роста растений [12]. Предполагается, что ростстимулирующее воздействие оказывается через продукцию индол-3-уксусной кислоты (ИУК) [13], АСС-дезаминазы, фосфатосолюбилизирующего фермента (PSE) [14] и сидерофора (SD) [15].

Среди токсинов, которые продуцируют штаммы *B. thuringiensis* всех серотипов, особый интерес вызывает белковый термолабильный δ -эндотоксин, который обладает фунгицидной активностью, влияет на показатели роста и развития отдельных сельскохозяйственных культур [16, 17]. Анализ литературных источников показал, что обработ-

ка δ -эндотоксином ювенильных растений огурца и фасоли положительно влияет на всхожесть семян, интенсивность роста побега, увеличение содержания хлорофилла в проростках [18, 19]. δ -эндотоксин *B. thuringiensis* стимулирует рост проростков перца стручкового по таким морфометрическими показателям, как длина корня, длина листа по средней жилке, обхват стебля, масса растения¹.

В качестве биохимических показателей устойчивости и интенсивности ростовых процессов в проростках в литературе рассматриваются метаболиты основного (амилазы, редуцирующие сахара, общая кислотность) и вторичного обмена (фенольные вещества). Фенольные соединения образуются во всех растительных тканях. Они чрезвычайно разнообразны по строению и химическим свойствам. Их функциональная роль чрезвычайно разнообразна и связана с процессами фотосинтеза, дыхания, аллелопатии, защиты от стрессовых воздействий [20, 21]. Фенольные соединения участвуют в регуляции роста растений, проявляя ингибирующее или стимулирующее ростовое воздействие [22]. Накопление указанных вторичных метаболитов зависит от вида растений, стадии их развития и условий произрастания [23]. Органические кислоты являются неперенными участниками механизмов адаптации растений. Имеются сведения, что изучение обмена органических кислот у растений в условиях стресса представляет интерес с точки зрения связующего звена между углеводным и азотным обменом [24]. Известно, что содержание углеводов в прорастающем семени положительно коррелирует с общей аминополитической активностью [25], а значит, по активности амилаз можно судить об активности ростовых процессов [26].

Необходимо отметить, что исследования по поводу ростстимулирующей активности *B. thuringiensis* представлены единичными публикациями, в ос-

¹ Коробов Я. А. Ростстимулирующее действие дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* на *Capsicum annuum* L. // Естественно-научные исследования в Симбирском-Ульяновском крае: сб. научных трудов XII Межрегиональной науч.-практ. конф. Ульяновск: УлГПУ им. И. Н. Ульянова, 2010. Вып. 11. 216 с.

новном результатами работ зарубежных авторов.

Цель исследований – изучение влияния энтомопатогенных штаммов *B. thuringiensis* на рост и основные биохимические показатели развития и устойчивости растений гороха сорта Девиз.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводились на базе лаборатории молекулярной генетики, протеомики и биоинформатики отдела сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» в 2020–2021 гг. Материалом для исследований послужили энтомопатогенные штаммы *B. thuringiensis* 685, 926 и 109-С. Штаммы получены из Крымской коллекции микроорганизмов ФГБУН «НИИСХ Крыма», зарегистрированной на сайте (<http://www.ckr-rf.ru>) под номером 507484. По физиолого-биохимическим свойствам штамм *B. thuringiensis* 685 отнесен к 1-му серотипу (var. *thuringiensis*), штамм *B. thuringiensis* 926 – к 3-му серотипу (var. *kurstaki*), а штамм *B. thuringiensis* 109-С – к 8-му серотипу (var. *morrisoni*). Действие исследуемых штаммов сравнивалось с действием штамма *B. thuringiensis* Z-52 3-го серотипа (var. *kurstaki*), у которого установлено наличие ростстимулирующих свойств для растений фасоли и огурца [18].

Споровую культуру штаммов *B. thuringiensis* получали на картофельном агаре культивированием бактерий в термостате при 27–28 °С в течение 7 суток.

Семена гороха стерилизовали поверхностно 0,5%-м раствором KMnO_4 (15 мин) с последующим многократным промыванием стерильной дистиллированной водой. Опытные образцы раскладывали в чашки Петри на стерильный увлажненный (до 60 % влагоемкости) песок и выдерживали при температуре 5 °С в течение 4-х суток, а затем помещали в термостат при 20 °С на 6 суток. В чашки добавляли смыв со скошенного агара в виде споровой суспензии с титром $3,5 \cdot 10^6$. В качестве контроля использовали дистиллированную воду. Исследования проводились в условиях лабораторного опыта.

Морфометрические параметры оценивали согласно стандартным методикам, определяли длину корня и побега проростка, сырой вес проростка². Биохимические показатели определяли у 10-суточных проростков гороха. Активность амилазы устанавливали в сырой массе целых проростков фотокалориметрически и выражали в мг/г³. Общую кислотность сырой массы проростков гороха определяли титрованием с 0,1 н раствором NaOH и выражали в мэкв/100 г.⁴ Определение суммарного содержания фенольных соединений проводили в водных экстрактах титриметрическим перманганатным методом в присутствии индигокармина по Левенталю³ и выражали в процентах от сухой массы. Пересчетный коэффициент рассчитан для фенолов чая и составляет 4,16.

Достоверность различий между контрольными и опытными вариантами оценивали с помощью критерия Стьюдента, статистический анализ морфометрических показателей и веса проростков проводили с помощью критерия Дункана [27].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Жидкая споровая культура всех исследованных штаммов *B. thuringiensis* оказывала стимулирующее воздействие на изученные морфометрические параметры 10-суточных проростков гороха сорта Девиз (рис. 1).

Обработка семян гороха споровой суспензией штаммов 685 и 926 способствовала увеличению длины корня проростка в среднем на 27,5 % к контролю (см. рис. 1). Споровая культура штаммов *B. thuringiensis* Z-52 и 109-С не оказывала стимулирующего воздействия на ростовые процессы в корне.

Анализ полученных экспериментальных данных свидетельствует о незначительном влиянии исследованных штаммов *B. thuringiensis* на изменение веса проростков. Обработка споровыми культурами способствовала увеличению веса проростков семян гороха посевного не более чем на 12,1 % в сравнении с контролем.

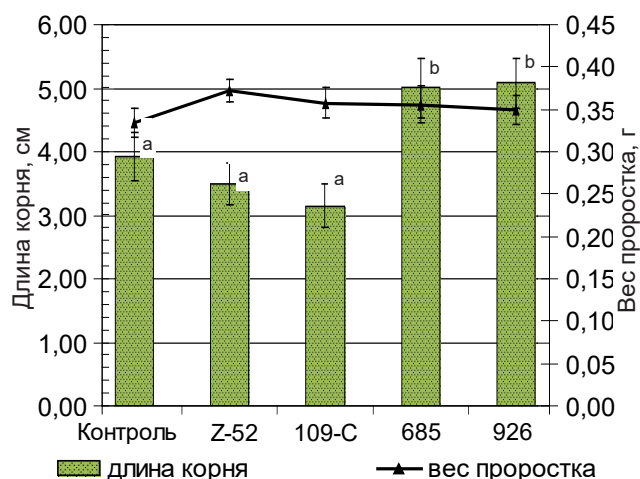


Рис. 1. Влияние жидких споровых культур штаммов *B. thuringiensis* на длину корня и вес проростка 10-суточных проростков гороха сорта Девиз (средние, обозначенные одними и теми же буквами, достоверно не различаются согласно критерию Дункана при уровне значимости 5%)

Fig. 1. Liquid spore culture of *B. thuringiensis* strains influence on root length and weight of the 10-day sprouts of Deviz peas (Mean values, followed by the same letters in each column are not significantly different by Duncan multiple range test at 5%)

² Дука М. Физиология растений: практикум для студентов биолого-почвенного факультета. Кишинев: Central Editorial al USM, 2003. 134 с.

³ Авксентьева О. О., Красильникова Л. О., Жмурко В. В. Біохімія рослин. Малий практикум. Харків: ХНУ ім. В. Н. Каразіна, 2006. 68 с.

⁴ Физиология и биохимия растений: методические указания. Белорусская государственная сельскохозяйственная академия / сост. Н. П. Решецкий, О. С. Кильчевская, Н. С. Вагина, Р. М. Латыпова, В. П. Моисеев. Горки, 2000. 144 с.

Выявлено увеличение длины побега при обработке семян культурой штаммов *B. thuringiensis* Z-52, 109-С и 685 в среднем в 4,1 раза, а при обработке культурой штамма *B. thuringiensis* 926 – в 2,6 раза к контролю (рис. 2).

Анализ полученных данных позволяет установить наличие стимулирующего влияния штамма *B. thuringiensis* 685 на формирование боковых корней проростков гороха сорта Девиз. В данном варианте наблюдали увеличение количества боковых корней соответственно на 78,2% относительно контроля (рис. 3).

Штаммы *B. thuringiensis* 926 и Z-52 не оказывали стимулирующего воздействия на развитие корневой системы. По отношению к контролю количество боковых корней уменьшилось на 40,0 и 36,2% соответственно.

Содержание органических кислот в семенах составляет всего до 0,5%, однако при этом они выполняют крайне важную роль в обмене веществ, являясь биологически активными веществами и управляя катаболизмом [28]. Достоверно известно, что органические кислоты участвуют в биосинтезе пигментов, пектина, некоторых аминокислот [29]. Общая кислотность семян оказывает влияние на энергию прорастания семян и активность ряда ферментов, в том числе амилаз [30].

Обработка споровой суспензией исследуемых штаммов *B. thuringiensis* Z-52, 109-С, 685 и 926 способствовала увеличению содержания органических кислот в проростках не более чем на 18,0% в сравнении с контролем (таблица).

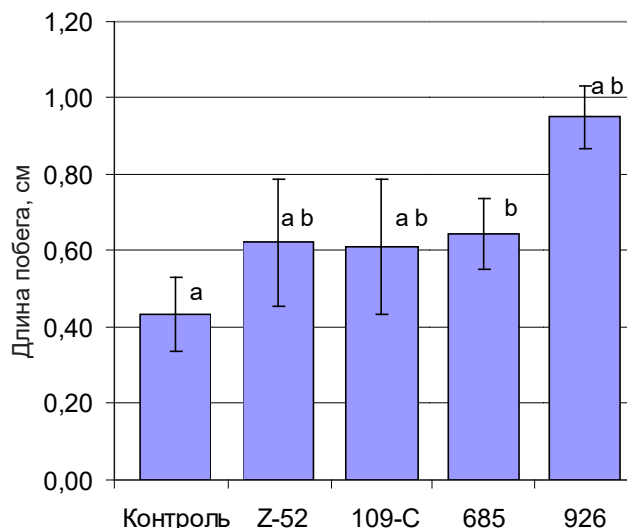


Рис. 2. Влияние жидких споровых культур штаммов *B. thuringiensis* на длину побега проростка 10-суточных проростков гороха сорта Девиз (средние, обозначенные одними и теми же буквами, достоверно не различаются согласно критерию Дункана при уровне значимости 5%)

Fig. 2. Liquid spore culture of *B. thuringiensis* strains influence on shoot length of the 10-day sprouts of Deviz peas (Mean values, followed by the same letters in each column are not significantly different by Duncan multiple range test at 5%)

Один из важнейших процессов при прорастании семян – активация питательных веществ из эндосперма, в первую очередь крахмала. Этот процесс обеспечивается за счет гидролитических реакций с участием фермента амилазы, локализованного в основном в зародыше. Позже амилаза диффундирует в эндосперм, где осуществляет расщепление крахмала до простых сахаров, используемых проростком на ранних этапах онтогенеза как источник энергии [31, 32]. Поэтому активность амилазы напрямую влияет на такие показатели, как всхожесть и энергия прорастания.

Исследование амилазной активности проростков гороха сорта Девиз позволило установить увеличение активности фермента в вариантах, обработанных спорowymi суспензиями штаммов *B. thuringiensis* 926 и 685 на 41,5 и 66,0% к контролю соответственно (см. таблицу). Штаммы *B. thuringiensis* 109-С и Z-52 существенного влияния на амилазную активность в проростках гороха не оказывали.

Большинство фенольных соединений растений синтезируется из шикимовой кислоты в ходе шикиматного пути, который дает до 60% углерода всей биомассы. Общеизвестно, что фенольные соединения являются составной частью лигнинов, которые образуют структурные элементы опорных тканей растения, обеспечивая защиту от полегания [33]. Фенольные соединения выполняют барьерную функцию при облучении растения УФ-лучами 280–320 нм [34]. Флавоногликозиды в клетках эпидермиса эффективно защищают фотосинтетический аппарат мезофилла и препятствуют де-

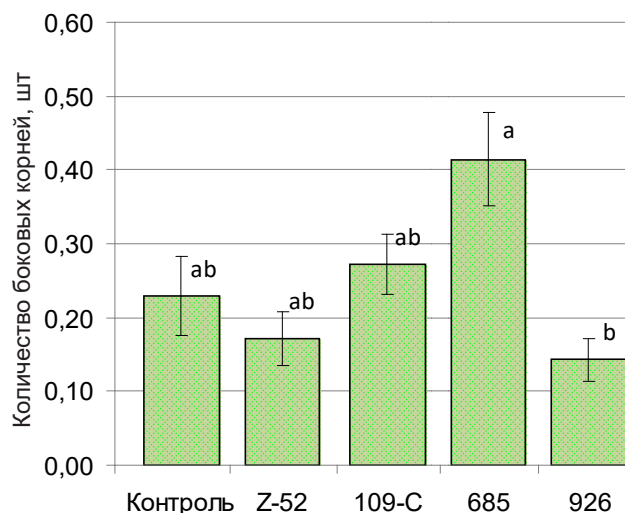


Рис. 3. Влияние жидкой споровой культуры штаммов *B. thuringiensis* на формирование боковых корней 10-суточных проростков гороха сорта Девиз ($p < 0,05$) (средние, обозначенные одними и теми же буквами, достоверно не различаются согласно критерию Дункана при уровне значимости 5%)

Fig. 3. Liquid spore culture of *B. thuringiensis* strains influence on the lateral roots formation of 10-day sprouts of Deviz peas (Mean values, followed by the same letters in each column are not significantly different by Duncan multiple range test at 5%)

Влияние штаммов *B. thuringiensis* на метаболические процессы в проростках *Pisum sativum* L.
B. thuringiensis strains influence on metabolic processes in *Pisum sativum* L. sprouts

Вариант опыта	Активность амилазы, мг/г*ч	Общая кислотность, мэкв/100 г сырой массы	Суммарное содержание фенольных соединений, %, от сухой массы
Контроль (вода)	0,0106±0,0017	14,71±0,47	4,9±0,08
<i>B. thuringiensis</i> Z-52	0,0067±0,0009	17,36±0,25*	5,7±0,1
<i>B. thuringiensis</i> 109-C	0,0097±0,0034	16,53±0,12*	5,5±0,5
<i>B. thuringiensis</i> 685	0,0150±0,0016*	16,33±0,17*	6,8±1,9*
<i>B. thuringiensis</i> 926	0,0176±0,0011*	16,34±0,13*	11,3±1,2*

Примечание. * – варианты, статистически достоверно отличающиеся от контроля согласно критерию Стьюдента.

градации ДНК [35, 36]. Ряд исследований также подтверждает гипотезу о том, что фенольные соединения выполняют роль мессенджеров между растением и микрофлорой, регулируя экспрессию генов и биосинтез ферментов [37].

Анализируя полученные экспериментальные данные, отметим, что все изученные штаммы *B. thuringiensis* оказывали стимулирующее влияние на синтез фенольных соединений в проростках гороха сорта Девиз (см. таблицу). Максимальным оно оказалось в варианте с обработкой семян гороха споровой суспензией штамма 926 и составило 11,3 %, что в 2,3 раза выше, чем в контроле. Культура штамма 685 способствовала увеличению содержания фенольных соединений на 38,7 % к контролю. Обработка семян гороха споровой суспензией штаммов *B. thuringiensis* 109-C и Z-52 показала тенденции к увеличению изучаемого показателя.

ВЫВОДЫ

Установлено, что жидкая споровая культура штаммов *B. thuringiensis* 685, 926 и 109-C оказывала стимулирующее воздействие на изученные морфометрические параметры 10-суточных проростков гороха сорта Девиз.

Отмечено, что по сравнению с контролем споровые суспензии всех изученных штаммов способствовали стимуляции корнеобразования, превышающей эталон не менее чем в 2 раза.

Показано, что обработка семян гороха споровой суспензией штаммов 685 и 926 способствовала увеличению длины корня проростка в среднем на 27,5 % к контролю.

Установлено, что обработка споровой суспензией исследуемых штаммов *B. thuringiensis* 109-C, 685 и 926 способствовала увеличению содержания органических кислот в проростках не более чем на 12,4 % в сравнении с контролем.

Показано, что максимальное стимулирующее действие на амилалитическую активность (на 41,5 % к контролю) и синтез фенольных соединений (в 2,3 раза к контролю) в проростках гороха сорта Девиз оказывала обработка споровой суспензией штамма *B. thuringiensis* 926.

Таким образом, если принимать во внимание энтомопатогенные свойства и полученные данные о ростстимулирующей активности штаммов *B. thuringiensis*, можно заключить, что данные бактерии имеют дополнительный потенциал для их использования в сельском хозяйстве.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Espinasse S., Chaufaux J., Buisson C., Perchat S., Gohar M., Bourguet D., et al. Occurrence and linkage between secreted insecticidal toxins in natural isolates of *Bacillus thuringiensis* // *Current Microbiology*. 2003. Vol. 47. P. 501–507. <https://doi.org/10.1007/s00284-003-4097-2>.
2. Кандыбин Н. В. Бактериальные средства борьбы с грызунами и вредными насекомыми: теория и практика. М.: Агропромиздат, 1989. 172 с.
3. Мельникова Е. А. О патогенности *B. thuringiensis* и препаратов на их основе для теплокровных организмов // Энтомопатогенные бактерии и их роль в защите растений. Новосибирск, 1987. С. 118–130.
4. Коростель С. И., Капустина О. В. Влияние термостабильного экзотоксина *Bacillus thuringiensis* на трихограмму (*Trichogramma* sp.) и агениасписа (*Ageniaspis tusciollus* Dalm.) // Труды ВНИИ защиты растений. 1975. 44 с.
5. Deshayes C., Siegwart M., Pauron D., Froger J.-A., Lapied B., Apaire-Marchais V. Microbial pest control agents: are they a specific and safe tool for insect pest management // *Current Medicinal Chemistry*. 2017. Vol. 24. P. 2959–2973. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170314144311>.
6. Baranek J., Pogodziński B., Szipluk N., Zielezinski A. TOXITAXi: a web resource for toxicity of *Bacillus thuringiensis* protein compositions towards species of various taxonomic groups // *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10. P. 19767. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75932-7>.
7. Rubio-Infante N., Moreno-Fierros L. An overview of the safety and biological effects of *Bacillus thuringiensis* cry toxins in mammals // *Journal of Applied Toxicology*. 2016. Vol. 36. P. 630–648. <https://doi.org/10.1002/jat.3252>.
8. Nazari M., Smith D. L. A PGPR-produced bacteriocin for sustainable agriculture: a review of thuricin 17 characteristics and applications // *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 11. <https://doi.org/10.3389/Fpls.2020.00916>.
9. Гришечкина С. Д., Ермолова В. П., Коваленко Т. К.,

- Антонец К. С., Белоусова М. Е., Яхно В. В. [и др.]. Полифункциональные свойства производственного штамма *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* 800/15 // Сельскохозяйственная биология. 2019. Т. 54. N 3. С. 494–504. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2019.3.494rus>.
10. Berg G., Muller H., Zachow C., Opelt K., Scherwinski K., Tilcher R., et al. Endophytes: structural and functional diversity and biotechnological applications in control of plant pathogens // *Ecological Genetics*. 2008. Vol. 6, no. 2. P. 17–26. <https://doi.org/10.17816/ecogen6217-26>.
11. Vyas P., Kaur R. Culturable stress-tolerant plant growth-promoting bacterial endophytes associated with *Adhatoda vasica* // *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2019. Vol. 19. P. 290–298. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00028-9>.
12. Jo H., Tagele S. B., Pham H. Q., Kim M. C., Choi S. D., Kim M. J., et al. Response of soil bacterial community and pepper plant growth to application of *Bacillus thuringiensis* KNU-07 // *Agronomy-Basel*. 2020. Vol. 10, no. 4. P. 551. <https://doi.org/10.3390/Agronomy10040551>.
13. Raheem A., Shaposhnikov A., Belimov A. A., Dodd I. C., Ali B. Auxin production by rhizobacteria was associated with improved yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress // *Archives of Agronomy and Soil Science*. 2018. Vol. 64. P. 574–587. <https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1362105>.
14. Ambreen S., Yasmin A., Aziz S. Isolation and characterization of organophosphorus phosphatases from *Bacillus thuringiensis* MB497 capable of degrading chlorpyrifos, triazophos and dimethoate // *Heliyon*. 2020. Vol. 6, no. 7. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04221>.
15. Garner B., Brown E., Taplin M., Garcia A., Williams-Mapp B. Transferrin Impacts *Bacillus thuringiensis* biofilm levels // *Biomed Research International*. 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3628268>.
16. De Mandal S., Singh S. S., Kumar N. S. Analyzing plant growth promoting *Bacillus* sp. and related genera in Mizoram, Indo-Burma biodiversity hotspot // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2018. Vol. 15. P. 370–376. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.026>.
17. Raddadi N., Cherif A., Boudabous A., Daffonchio D. Screening of plant growth promoting traits of *Bacillus thuringiensis* // *Annals of Microbiology*. 2008. Vol. 58. P. 47–52. <https://doi.org/10.1007/Bf03179444>.
18. Симонова А. А., Терехин Д. А., Терехина Л. Д., Каменек Л. К. Стимулирующее действие дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* *kurstaki* штамм Z-52 на ювенильные растения // Постгеномная эра в биологии и проблемы: материалы II Международной научно-практической конференции. Казань, 2008. С. 119–120.
19. Терехин Д. А., Терехина Л. Д., Симонова А. А., Каменек Л. К. Характер действия дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* *kurstaki* штамм Z-52 на огурец в условиях низких температур *in vitro* // Постгеномная эра в биологии и проблемы: материалы II Международной научно-практической конференции. Казань, 2008. С. 131–132.
20. Cheynier V., Comte G., Davis K. M., Lattanzio V., Martens S. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013. Vol. 72. P. 1–20. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23774057/>.
21. Lattanzio V., Kroon P. A., Quideau S., Treutter D. Plant phenolics – secondary metabolites with diverse functions // *Recent advances in Polyphenol Research*. F. Daayf, V. Lattanzio (eds.). Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2008. Vol. 1. P. 1–35.
22. Демиденко Г. А. Влияние свинца на рост и развитие семян и проростков гороха овощного // Вестник КрасГАУ. 2019. N 4. С. 16–23.
23. Chacon I., Riley-Saldana Ch., Gonzalez A. Secondary metabolites during early development in plants // *Phytochemistry Reviews*. 2013. Vol. 12. P. 47–64. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9250-8>.
24. Казанцева В. В., Гончарук Е. А., Фесенко А. Н., Широкова А. В., Загоскина Н. В. Особенности образования фенольных соединений в проростках гречихи (*Fagopyrum esculentum* Moench) различных сортов // Сельскохозяйственная биология. 2015. Т. 50. N 5. С. 611–619. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2015.5.611rus>.
25. Pompeiano A., Fanucchi F., Guglielminetti L. Amylolytic activity and carbohydrate levels in relation to coleoptile anoxic elongation in *Oryza sativa* genotypes // *Journal of Plant Research*. 2013. Vol. 126, no. 6. P. 787–794. <https://doi.org/10.1007/s10265-013-0567-1>.
26. Liu X., Zhang S., Shan X. Q., Christie P. Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidative enzyme responses to cadmium and arsenate co-contamination // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2007. Vol. 68, no. 2. P. 305–313. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.11.001>.
27. Хайлафян А. А. Современные статистические методы медицинских исследований. М.: ЛЕНАРД, 2014. 320 с.
28. Deore G. B., Limaye A. S., Dushing Y. A., Dhobale S. B., Kale S., Laware S. L. Screening of protease producing fungi for microbial digestion of seed proteins and synthesis of amino acids-metalnutrient chelates // *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2013. Vol. 16. P. 86–91. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2013.86.91>.
29. Carré B., Gomez J., Chagneau A. M. Contribution of oligosaccharide and polysaccharide digestion, and excreta losses of lactic acid and short chain fatty acids, to dietary metabolisable energy values in broiler chickens and adult cockerels // *British Poultry Science*. 1995. Vol. 36. P. 611–629. <https://doi.org/10.1080/00071669508417807>.
30. Khemakhem M., Zarroug Y., Jabou K., Selmi S., Bouzouita N. Physicochemical characterization of oil,

antioxidant potential, and phenolic profile of seeds isolated from Tunisian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars // *Journal of Food Science*. 2021. Vol. 86, no. 3. P. 852–859. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15636>.

31. Schepper C. F., Michiels P., Buvé C., van Loey A. M., Courtin C. M. Starch hydrolysis during mashing: a study of the activity and thermal inactivation kinetics of barley malt α -amylase and β -amylase // *Carbohydrate Polymers*. 2021. Vol. 255. P. 117494. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117494>.

32. Andriotis V. M. E., Rejzek M., Barclay E., Michael D. M., Robert A. F., Alison M. A. Cell wall degradation is required for normal starch mobilisation in barley endosperm // *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6. P. 33215. <https://doi.org/10.1038/srep33215>.

33. Ahmed Z., Manzoor M. F., Ahmad N., Zeng X.-A., Din Z. U., Roobab U. Impact of pulsed electric field treatments on the growth parameters of wheat seeds and nutritional properties of their wheat plantlets juice // *Food Science & Nutrition*. 2020. Vol. 8, no. 5. P. 2490–2500. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1540>.

34. Díaz-Guerra L., Llorens L., Julkunen-Tiitto R., Nogués I., Font J., González J. A., et al. Leaf biochem-

ical adjustments in two Mediterranean resprouter species facing enhanced UV levels and reduced water availability before and after aerial biomass removal // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019. Vol. 137. P. 130–143. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.01.031>.

35. Ahmadi T., Shabani L., Sabzalian M. R. LED light mediates phenolic accumulation and enhances antioxidant activity in *Melissa officinalis* L. under drought stress condition // *Protoplasma*. 2020. Vol. 257, no. 4. P. 1231–1242. <https://doi.org/10.1007/s00709-020-01501-4>.

36. Beshamgan E. S., Sharifi M., Zarinkamar F. Crosstalk among polyamines, phytohormones, hydrogen peroxide, and phenylethanoid glycosides responses in *Scrophularia striata* to Cd stress // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019. Vol. 143. P. 129–141. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.08.028>.

37. Ayuso-Calles M., García-Estévez I., Jiménez-Gómez A., Flores-Félix J. D., Escribano-Bailón M. T., Rivas R. *Rhizobium laguerreae* improves productivity and phenolic compound content of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under saline stress conditions // *Foods*. 2020. Vol. 9, no. 9. P. 1166. <https://doi.org/10.3390/foods9091166>.

REFERENCES

1. Espinasse S., Chaufaux J., Buisson C., Perchat S., Gohar M., Bourguet D., et al. Occurrence and linkage between secreted insecticidal toxins in natural isolates of *Bacillus thuringiensis*. *Current Microbiology*. 2003;47:501–507. <https://doi.org/10.1007/s00284-003-4097-2>.

2. Kandybin N. V. *Bacterial means of rodents and harmful insects control: theory and practice*. Moscow: Agropromizdat; 1989. 172 p. (In Russian).

3. Mel'nikova E. A. On the pathogenicity of *B. thuringiensis* and preparations based on them for warm-blooded organisms. In: *Entomopathogenic bacteria and their role in plant protection*. Novosibirsk, 1987. P. 118–130. (In Russian).

4. Korostel' S. I., Kapustina O. V. Effect of thermostable *Bacillus thuringiensis* exotoxin on trichogramma (*Trichogramma* sp.) and ageniaspis (*Ageniaspis tus-cicollus* Dalm.). *Trudy VNII zashchity rastenii*. 1975. 44 p. (In Russian).

5. Deshayes C., Siegwart M., Pauron D., Froger J.-A., Lapied B., Aparaire-Marchais V. Microbial pest control agents: are they a specific and safe tool for insect pest management. *Current Medicinal Chemistry*. 2017;24:2959–2973. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170314144311>.

6. Baranek J., Pogodziński B., Szipluk N., Zielezinski A. TOXiTAXi: a web resource for toxicity of *Bacillus thuringiensis* protein compositions towards species of various taxonomic groups. *Scientific Reports*. 2020;10:19767. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75932-7>.

7. Rubio-Infante N., Moreno-Fierros L. An overview of the safety and biological effects of *Bacillus thuringiensis* cry toxins in mammals. *Journal of Applied Toxicology*. 2016;36:630–648. <https://doi.org/10.1002/jat.3252>.

8. Nazari M., Smith D. L. A PGPR-produced bacteriocin for sustainable agriculture: a review of thuricin 17 characteristics and applications. *Frontiers*

in *Plant Science*. 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00916>.

9. Grishechkina S. D., Ermolova V. P., Kovalenko T. K., Antonets K. S., Belousova M. E., Yakhno V. V., et al. Polyfunctional properties of the *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* industrial strain 800/15. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*. 2019;54(3):494–504. (In Russian). <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2019.3.494rus>.

10. Berg G., Muller H., Zachow C., Opelt K., Scherwinski K., Tilcher R., et al. Endophytes: structural and functional diversity and biotechnological applications in control of plant pathogens. *Ecological Genetics*. 2008;6(2):17–26. <https://doi.org/10.17816/ecogen6217-26>.

11. Vyas P., Kaur R. Culturable stress-tolerant plant growth-promoting bacterial endophytes associated with *Adhatoda vasica*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2019;19:290–298. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00028-9>.

12. Jo H., Tagele S. B., Pham H. Q., Kim M. C., Choi S. D., Kim M. J., et al. Response of soil bacterial community and pepper plant growth to application of *Bacillus thuringiensis* KNU-07. *Agronomy-Basel*. 2020;10(4):551. <https://doi.org/10.3390/Agronomy10040551>.

13. Raheem A., Shaposhnikov A., Belimov A. A., Dodd I. C., Ali B. Auxin production by rhizobacteria was associated with improved yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 2018;64:574–587. <https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1362105>.

14. Ambreen S., Yasmin A., Aziz S. Isolation and characterization of organophosphorus phosphatases from *Bacillus thuringiensis* MB497 capable of degrading chlorpyrifos, triazophos and dimethoate. *Heliyon*. 2020;6(7). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04221>.

15. Garner B., Brown E., Taplin M., Garcia A., Williams-Mapp B. Transferrin Impacts *Bacillus thuringien-*

- sis biofilm levels. *Biomed Research International*. 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3628268>.
16. De Mandal S., Singh S. S., Kumar N. S. Analyzing plant growth promoting *Bacillus* sp. and related genera in Mizoram, Indo-Burma biodiversity hotspot. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2018;15:370-376. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.026>.
17. Raddadi N., Cherif A., Boudabous A., Daffonchio D. Screening of plant growth promoting traits of *Bacillus thuringiensis*. *Annals of Microbiology*. 2008;58:47-52. <https://doi.org/10.1007/Bf03179444>.
18. Simonova A. A., Terehin D. A., Terehina L. D., Kamenek L. K. Stimulating effect of *Bacillus thuringiensis* kurstaki delta-endotoxin strain Z-52 on juvenile plants. In: *Postgenomnaja jera v biologii i problemy: materialy II Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii = Postgenomic Era in Biology and Problems: Materials of the II International Scientific and Practical Conference*. Kazan; 2008, p. 119-120. (In Russian).
19. Terehin D. A., Terehina L. D., Simonova A. A., Kamenek L. K. The nature of the action of *Bacillus thuringiensis* kurstaki delta-endotoxin strain Z-52 on cucumber at low temperatures *in vitro*. In: *Postgenomnaja jera v biologii i problemy: materialy II Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii = Postgenomic Era in Biology and Problems: Materials of the II International Scientific and Practical Conference*. Kazan; 2008, p. 131-132. (In Russian).
20. Cheynier V., Comte G., Davis K. M., Lattanzio V., Martens S. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013;72:1-20. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23774057/>.
21. Lattanzio V., Kroon P. A., Quideau S., Treutter D. Plant phenolics – secondary metabolites with diverse functions. In: *Recent Advances in Polyphenol Research*. F. Daayf, V. Lattanzio (eds.). Oxford, UK, Wiley-Blackwell; 2008, vol. 1, p. 1-35.
22. Demidenko G. A. The influence of lead on growth and development of seeds and seed growth of vegetable pea. *Vestnik KrasGAU = Bulletin of KSAU*. 2019;(4):16-23. (In Russian).
23. Chacon I., Riley-Saldana Ch., Gonzalez A. Secondary metabolites during early development in plants. *Phytochemistry Reviews*. 2013;12:47-64. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9250-8>.
24. Kazantseva V. V., Goncharuk E. A., Fesenko A. N., Shirokova A. V., Zagoskina N. V. Features of the phenolics' formation in seedlings of different varieties of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Sel'skhozhozajstvennaja biologija = Agricultural Biology*. 2015;50(5):611-619. (In Russian). <https://doi.org/10.15389/agrobiologiya.2015.5.611rus>.
25. Pompeiano A., Fanucchi F., Guglielminetti L. Amylolytic activity and carbohydrate levels in relation to coleoptile anoxic elongation in *Oryza sativa* genotypes. *Journal of Plant Research*. 2013;126(6):787-794. <https://doi.org/10.1007/s10265-013-0567-1>.
26. Liu X., Zhang S., Shan X. Q., Christie P. Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidative enzyme responses to cadmium and arsenate co-contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2007;68(2):305-313. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.11.001>.
27. Hajlajfan A. A. *Modern statistical methods of medical research*. Moscow: LENARD; 2014. 320 p. (In Russian).
28. Deore G. B., Limaye A. S., Dushing Y. A., Dhobale S. B., Kale S., Laware S. L. Screening of protease producing fungi for microbial digestion of seed proteins and synthesis of amino acids-metalnutrient chelates. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2013;16:86-91. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2013.86.91>.
29. Carré B., Gomez J., Chagneau A. M. Contribution of oligosaccharide and polysaccharide digestion, and excreta losses of lactic acid and short chain fatty acids, to dietary metabolisable energy values in broiler chickens and adult cockerels. *British Poultry Science*. 1995;36:611-629. <https://doi.org/10.1080/00071669508417807>.
30. Khemakhem M., Zarroug Y., Jabou K., Selmi S., Bouzouita N. Physicochemical characterization of oil, antioxidant potential, and phenolic profile of seeds isolated from Tunisian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Journal of Food Science*. 2021;86(3):852-859. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15636>.
31. Schepper C. F., Michiels P., Buvé C., van Loey A. M., Courtin C. M. Starch hydrolysis during mashing: a study of the activity and thermal inactivation kinetics of barley malt α -amylase and β -amylase. *Carbohydrate Polymers*. 2021;255:117494. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117494>.
32. Andriotis V. M. E., Rejzek M., Barclay E., Michael D. M., Robert A. F., Alison M. A. Cell wall degradation is required for normal starch mobilisation in barley endosperm. *Scientific Reports*. 2016;6:33215. <https://doi.org/10.1038/srep33215>.
33. Ahmed Z., Manzoor M. F., Ahmad N., Zeng X.-A., Din Z. U., Roobab U. Impact of pulsed electric field treatments on the growth parameters of wheat seeds and nutritional properties of their wheat plantlets juice. *Food Science & Nutrition*. 2020;8(5):2490-2500. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1540>.
34. Díaz-Guerra L., Llorens L., Julkunen-Tiitto R., Nogués I., Font J., González J. A., et al. Leaf biochemical adjustments in two Mediterranean resprouter species facing enhanced UV levels and reduced water availability before and after aerial biomass removal. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;137:130-143. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.01.031>.
35. Ahmadi T., Shabani L., Sabzalian M. R. LED light mediates phenolic accumulation and enhances antioxidant activity in *Melissa officinalis* L. under drought stress condition. *Protoplasma*. 2020;257(4):1231-1242. <https://doi.org/10.1007/s00709-020-01501-4>.
36. Beshamgan E. S., Sharifi M., Zarinkamar F. Crosstalk among polyamines, phytohormones, hydrogen peroxide, and phenylethanoid glycosides responses in *Scrophularia striata* to Cd stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;143:129-141. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.08.028>.
37. Ayuso-Calles M., García-Estévez I., Jiménez-Gómez A., Flores-Félix J. D., Escribano-Bailón M. T., Rivas R. *Rhizobium laguerreae* improves productivity and phenolic compound content of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under saline stress conditions. *Foods*. 2020;9(9):1166. <https://doi.org/10.3390/foods9091166>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. В. Крыжко,

к.с.-х.н., ведущий научный сотрудник
лаборатории молекулярной генетики,
протеомики и биоинформатики
в сельском хозяйстве,
Научно-исследовательский институт сельского
хозяйства Крыма,
295453, г. Симферополь, ул. Киевская, 150,
Российская Федерация,
kryzhko_a@niishk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5401-0579>

Н. Н. Смаглий,

лаборант лаборатории молекулярной
и клеточной биологии,
Научно-исследовательский институт сельского
хозяйства Крыма,
295453, г. Симферополь, ул. Киевская, 150,
Российская Федерация,
scarletsun7991@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5931-0412>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 14.05.2022.
Одобрена после рецензирования 02.08.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Anastasiia V. Kryzhko,

Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher,
Laboratory of Molecular Genetics, Proteomics
and Bioinformatics in Agriculture,
Research Institute of Agriculture of Crimea,
150, Kievskaya St., Simferopol, 295453,
Russian Federation,
kryzhko_a@niishk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5401-0579>

Natalia N. Smaglyi,

Assistant,
Laboratory of Molecular and Cellular Biology,
Research Institute of Agriculture of Crimea,
150, Kievskaya St., Simferopol, 295453,
Russian Federation,
scarletsun7991@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5931-0412>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.*

Information about the article

The article was submitted 14.05.2022.
Approved after reviewing 02.08.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.



Оценка связи биохимических процессов и качества продукта при разработке биотехнологии сыра с благородной плесенью

Юлия Геннадьевна Стурова*, Анастасия Викторовна Гришкова**,***,
Вадим Владимирович Коньшин*

*Алтайский государственный технический университет, г. Барнаул, Российская Федерация

**ФГБНУ ФАНЦА, отдел СибНИИС, г. Барнаул, Российская Федерация

***Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Стурова Юлия Геннадьевна, y_sturova@mail.ru

Аннотация. С конца 2014 года после введения эмбарго наблюдается значительное сокращение объемов импорта сыра. К числу запрещенной к ввозу продукции относятся сыры с плесенью. В связи с этим разработка новых технологий сыров является актуальной задачей, стоящей перед молочной отраслью. Группа сыров, созревающих при участии благородной плесени, является полезным продуктом, богатым содержанием белка, в состав которого входит множество незаменимых аминокислот, оказывающих благотворное влияние на укрепление стенок сосудов, снижение их ломкости. Микроорганизмы, входящие в состав микрофлоры закваски таких сыров, создают благоприятные условия в ЖКТ, способствуя оздоровлению микрофлоры кишечника, предупреждению бродильных процессов и метеоризма. Высокое содержание в сырах данной группы витамина В₁₂ положительно влияет на работу центральной нервной системы. Любое производство должно быть экономически целесообразным, способствующим снижению себестоимости продукта. Для увеличения дохода, а соответственно, рентабельности производства предложена разработка биотехнологии сыра, созревающего при участии благородной плесени, выработанного из смеси цельного молока и вторичного белково-углеводного сырья. Проведены исследования влияния вида белково-углеводного сырья, закваски и вида плесеней на физико-химические и органолептические свойства продукта, а также определено оптимальное соотношение сырья (молоко:пахта) для выработки сыра. Предлагаемый продукт исследован на предмет относительного состава азотистых фракций, наличие и количество летучих жирных кислот. Показано, что в опытных сырах, выработанных с применением благородной плесени, более интенсивно протекали процессы протеолиза и липолиза, что нашло свое отражение в улучшении органолептических показателей готового продукта. Полученный мягкий сыр имеет уникальные показатели, пикантный грибной вкус и может быть рекомендован для производства на сыродельных предприятиях.

Ключевые слова: благородная плесень, мягкий сыр, протеолиз, липолиз, водорастворимые жирные кислоты, азотистые фракции, органолептическая оценка сыра

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (№ 075-00316-20-01 от 21.02.2020; мнемокод 0611-2020-013; номер темы FZMM-2020-0013).

Для цитирования: Стурова Ю. Г., Гришкова А. В., Коньшин В. В. Оценка связи биохимических процессов и качества продукта при разработке биотехнологии сыра с благородной плесенью // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 566–575. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-566-575>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Development of biotechnology for cheese having a noble mould: A relationship between biochemical processes and product quality

Yuliya G. Sturova*, Anastasiya V. Grishkova**,***, Vadim V. Konshin*

*Altai State Technical University, Barnaul, Russian Federation

**FSBSI FASCA, Department Siberian Research Institute of Cheese Making, Barnaul, Russian Federation

***Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation

Corresponding author: Yuliya G. Sturova, y_sturova@mail.ru

Abstract. Since late 2014, following the embargo, a significant reduction in cheese import, including mould cheese, has been observed. Developing new cheese technologies comprise therefore an urgent task for the milk industry. The cheeses ripened using noble mould represent a wholesome product, rich in protein, which contains many essential amino acids, beneficial for strengthening the walls of blood vessels and reducing angiaesthesia. The microorganisms in the cheese starter culture create favourable conditions for healthy microflora in the gastrointestinal tract, preventing fermentation and meteorism. The high content of vitamin B₁₂ in these cheeses has a positive effect on the central nervous system. Any production must be economically viable, lowering the production costs. In order to increase income, and consequently the profitability of production, the method of cheese ripening using a noble mould, obtained from a mixture of whole milk and secondary protein-carbohydrate raw materials, was proposed. The influence of the type of protein-carbohydrate raw material, yeast and mould on the physicochemical and organoleptic properties of the product was investigated. The optimal ratio of raw materials (milk:buttermilk) for cheese production was determined. The relative composition of nitrogen fractions and the presence and amount of volatile fatty acids in the proposed product were also examined. It was shown that proteolysis and lipolysis processes were more intensive in the experimental cheeses produced using a noble mould, resulting in the improvement of organoleptic characteristics of the finished product. The resulting soft cheese having unique characteristics and a tangy mushroom flavour can be recommended for production in cheese factories.

Keywords: noble mould, soft cheese, proteolysis, lipolysis, water-soluble fatty acids, nitrogen fractions, organoleptic evaluation of cheese

Funding. The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (no. 075-00316-20-01 dated February 21, 2020; mnemocode 0611-2020-013; topic number FZMM-2020-0013).

For citation: Sturova Yu. G., Grishkova A. V., Konshin V. V. Development of biotechnology for cheese having a noble mould: A relationship between biochemical processes and product quality. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biokhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):566-575. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-566-575>.

ВВЕДЕНИЕ

С конца 2014 года после введения эмбарго наблюдается значительное сокращение объемов импорта сыра. Большинство из прежних стран-экспортеров сыра в Россию попали под действие введенного летом 2014 года запрета на ввоз, на их долю приходилось до 70 % импорта сыров и творога [1]. К числу запрещенной к ввозу продукции относятся сыры с плесенью. Сегмент рынка плесневых сыров начал понемногу развиваться только к 2017 году в основном в крупных городах. Интерес к сырам с плесенью проявляется точечно, но он существует, и исчезновение экзотического продукта с прилавков вызовет волнение на рынке.

Импортозамещение, называемое ранее перениманием опыта иностранцев, занимало еще Н. В. Верещагина во второй половине XIX века [2]. На сегодняшний день Россия является страной, которая имеет довольно большой ассортимент молочных продуктов. Однако и сейчас по сравнению с Европой ассортимент сыров остается менее значимым. На государственном уровне стоит задача сделать изготовление товаров отечественного производства основой российской экономики. Премьер-министр Российской Федерации М. В. Мишустин в апреле 2022 года в ходе доклада в Государственной думе подчеркнул, что сегодня импортозамещение для России – «это вопрос экономического суверенитета».

В связи с этим разработка новых технологий сыров, в частности созревающих при участии благородной плесени, является актуальной и значимой задачей, стоящей перед молочным производством [3–6].

Сыр является одним из самых древних молочных продуктов. О возникновении многих видов сыров ходят легенды. Особую группу составляют сыры с плесенью. Ассортимент этого вида сыров насчитывает более 200 разновидностей. Он может быть мягким, полутвердым, твердым, с белой, голубой, зеленой, красной, черной плесенью и даже гибридами [1]. Все группы этих сыров объединяет то, что они вырабатываются и созревают с участием микрофлоры благородной плесени. Это очень полезный продукт, богатый содержанием белка, кальция, калия, фосфора, витаминов А, Е, группы В и других, а также макро- и микроэлементов. Кроме того, в состав сыра входят полезные бактерии, оказывающие положительное влияние на пищеварение [7, 8].

Для лучшего усвоения кальция организмом необходимы «помощники». При употреблении сыра с плесенью не нужно применять никаких добавок, потому что благородная плесень увеличивает уровень усвоения кальция организмом человека за счет своей ингибиторной способности. Запас кальция и калия в организме благотворно влияет на костную систему человека, зубную эмаль. Также важен тот факт, что содержание фосфора в таких сырах даже больше, чем в некоторых сортах рыбы [9, 10].

Систематическое и регулярное употребление сыра с плесенью помогает снизить негативное воздействие ультрафиолетовых лучей, а также замедляет преждевременное старение кожи за счет веществ, содержащихся в сыре и способствующих выработке мелатонина [10, 11].

Все микроорганизмы, входящие в состав ми-

крофлоры закваски таких сыров, создают благоприятные условия в ЖКТ для развития полезных бактерий, тем самым способствуя оздоровлению микрофлоры кишечника, предупреждению броидильных процессов и метеоризма. Благодаря насыщению организма витамином В₅ улучшается общий гормональный фон [9–12].

В сырах, созревающих при участии плесени, содержится в несколько раз больше витамина В₁₂, нежели в остальных сортах сыра. Данный витамин положительно влияет на работу центральной нервной системы, помогает в ее нормализации, повышает стрессоустойчивость, улучшает качество сна. Также этот витамин контролирует правильную работу надпочечников, предотвращая развитие острых воспалительных процессов [9–14].

Аминокислоты и жиры приносят пользу для всей сердечно-сосудистой системы. Сыры полезны для организма именно тем, что обладают высокой концентрацией необходимых незаменимых аминокислот, что помогает укреплять стенки сосудов, снижает их ломкость. Кроме этого, происходит насыщение клеток сердечной мышцы полезными жирами и, следовательно, улучшение качества работы жизненно важного органа, ускорение обменных процессов и обогащение клеток необходимыми минералами [11–15].

Следует отметить, что, как и при употреблении всех продуктов, витаминов и т. д., существует определенная норма потребления сыра – 50 г в день. При систематическом превышении данной нормы могут проявляться неблагоприятные последствия для человека в виде дисбактериоза, аллергических реакций на пенициллин, а также инфекционный листериоз, опасный для беременных женщин и протекающий бессимптомно [16].

В связи с нынешней экономической обстановкой в стране предприятия молочной промышленности вынуждены искать пути удешевления производства продукта. Процесс выработки сыров является затратным, т. к. выход сыра (в зависимости от вида) составляет меньше 50% от сырья, используемого для его производства. Также значимы затраты на уход во время созревания продукта и амортизацию оборудования для его выработки.

Одной из особо важных целей предприятий молочной промышленности, которая может способствовать снижению себестоимости продукта, является использование вторичного сырья, получаемого при производстве различных молочных продуктов. К вторичному сырью относятся молочная сыворотка (сладкая и кислая), пахта, обезжиренное молоко [17, 18].

При наращивании темпов по производству сыра и масла увеличивается объем ресурсов подсырной сыворотки и пахты. Более половины от всего объема пахты отправляется на предприятия, специализирующиеся на сельском хозяйстве, или просто выливается. Молочную сыворотку используют для выработки различных напитков с разнообразными наполнителями, но так как ее

объем от общего объема молока, направленного на выработку сыра или творога, составляет от 70 до 85%, то в производстве используется менее 30% от всей ее доли [19].

Данные вторичные продукты переработки молока являются ценным сырьем в промышленности. Они богаты сывороточными белками, аминокислотами, фосфатидами, лецитином, различными водо- и жирорастворимыми витаминами, минеральными солями. В пахту переходит значительное количество фосфолипидов и от 17 до 21% холестерина. Пахта обогащена жирными кислотами, в частности летучими, такими как муравьиная, уксусная, пропионовая и масляная [17–18]. Кроме того, пахта является богатым источником лецитина, который находится в ней в наиболее активной форме, поскольку связан с белком, образуя активный белково-лецитиновый комплекс [18, 20].

Использование пахты для тех или иных целей зависит от вида масла, при производстве которого она была получена. Так, пахта от производства сладкосливочного масла может быть использована для нормализации цельномолочной продукции, для производства напитков, творога, сыра, сгущенной и сухой пахты, а также для производства мороженого; пахта от кисломолочного масла может применяться для выработки кисломолочных напитков, творога, сыров и мороженого [17–20].

Для увеличения дохода, а соответственно, рентабельности производства является целесообразным применение вторичного сырья на предприятиях молочной промышленности при выработке молочных продуктов.

Целью проведенных исследований являлась разработка биотехнологии и исследование мягкого сыра, созревающего при участии благородной плесени, выработанного из смеси цельного молока и вторичного белково-углеводного сырья.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Все исследования, необходимые для проведения данной работы, осуществлялись в лаборатории кафедры технологии продуктов питания Алтайского государственного технического университета им. И. И. Ползунова и ЦКИ «Алтай-БиоЛакт».

В ходе данной работы вся продукция контролировалась по следующим показателям: органолептические (вкус, запах, консистенция и внешний вид, рисунок) и физико-химические (состав каждого компонента и смеси, титруемая кислотность, pH, массовая доля влаги и жира).

В качестве сырья для экспериментов использовалось сырое молоко и пахта. Сырье по органолептическим и физико-химическим показателям исследовалось в соответствии с нормативно-технической документацией:

- ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции»;
- ГОСТ 31449–2013 «Молоко коровье сырое. Технические условия»;

Таблица 1. Состав смесей для выработки мягкого сыра
Table 1. Composition of mixtures for the soft cheese production

№ образца	Содержание молока, %	Содержание сыворотки, %	Содержание пахты, %	Вид закваски	Вид культуры плесеней
1	60	–	40	1*	<i>Penicillium candidum</i>
2	60	–	40	1	<i>Penicillium roqueforti</i>
3	60	–	40	2*	<i>Penicillium candidum</i>
4	60	40	–	1	<i>Penicillium candidum</i>
5	60	40	–	1	<i>Penicillium roqueforti</i>
6	60	40	–	2	<i>Penicillium candidum</i>
7	60	–	40	1	<i>Penicillium candidum</i> , <i>Penicillium roqueforti</i>
8	60	40	–	1	<i>Penicillium candidum</i> , <i>Penicillium roqueforti</i>

Примечание. Для свертывания молока применяли заквасочные культуры, предоставленные компанией ООО «АлтаЛакт» (Россия, г. Барнаул): 1* – закваска МА, состоящая из *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*; *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*; 2* – закваска МАG, состоящая из *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*; *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*; *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*.

– ГОСТ Р 53513–2009 «Пахта и напитки на ее основе. Технические условия».

Определение продуктов распада казеина при созревании сыров проводили по фракциям с установлением количества азота в каждой фракции методом Кьельдаля согласно ГОСТ 34454–2018 «Определение массовой доли белка методом Кьельдаля» в аппарате VELP Scientifica UDK 159 (VELP, Италия).

Определение числа водорастворимых и органически растворимых летучих жирных кислот в сыре проводили по методу В. Аристовой и А. Карышевой [21].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Сыры с плесенью вырабатываются из цельного молока. В настоящее время одной из целей предприятий молочной промышленности, как сказано выше, является переработка вторичного сырья с целью увеличения прибыли. Исходя из этого, было решено выработать мягкий сыр с различными видами плесеней и закваски из смеси цельного молока с сывороткой и пахтой.

Для выработки сыра было взято 8 различных вариантов смесей. Состав каждого варианта представлен в табл. 1.

Была проведена физико-химическая оценка цельного молока, пахты, сыворотки, а также их смесей. Данные исследований приведены в табл. 2 и 3.

Из смесей, указанных в табл. 1, было выработано 8 образцов сыра в соответствии с технологией производства мягкого сыра «Нежный» согласно ТУ 9225-005-02068315-96, выход продукта, массовая доля влаги и жира в сухом веществе этих образцов приведены в табл. 4.

Исходя из представленных данных, видно, что наибольший выход продукта был получен в об-

Таблица 2. Физико-химические показатели компонентов смесей

Table 2. Physico-chemical parameters of mixtures components

Исследуемый показатель	Молоко	Пахта	Сыворотка
Кислотность, °Т	18,0±0,4	21,0±0,7	13,0±0,6
М.Д.Ж., %	2,6±0,2	0,30±0,06	0,22±0,05
М.Д.Б., %	2,9±0,1	1,78±0,01	0,60±0,06

Таблица 3. Физико-химические показатели смесей

Table 3. Physico-chemical parameters of mixtures

Исследуемый показатель	60% молока и 40% пахты	60% молока и 40% сыворотки
Кислотность, °Т	17,0±0,4	15,0±0,4
М.Д.Ж., %	1,70±0,04	1,60±0,04
М.Д.Б., %	2,49±0,01	2,65±0,06

Таблица 4. Физико-химические показатели исследуемых образцов свежего сыра

Table 4. Physico-chemical parameters of the studied fresh cheese samples

Образец	Выход, %	М.Д.В, %	М.Д.Ж в СВ, %
1	11,20±0,43	59,50±0,65	45±1
2	11,10±0,23	59,30±0,53	45±1
3	10,30±0,17	59,80±0,16	45±1
4	6,30±0,24	49,80±0,16	43±1
5	8,20±0,16	43,80±0,42	42±1
6	7,20±0,24	49,80±0,16	43±1
7	11,10±0,16	59,20±0,69	45±1
8	8,30±0,17	49,50±0,65	43±1

разцах 1, 2, 3 и 7. Все 4 образца имеют в своем составе молоко и пахту.

Во время созревания был проведен контроль массовой доли влаги в сыре. Результаты представлены на рис. 1.

Исходя из данных диаграммы, представленной на рис. 1, можно сделать вывод, что изначально содержание влаги выше в образцах 1, 2, 3 и 7. Данные образцы представляют собой сыр из смеси цельного молока и пахты в пропорции 60 % молока и 40 % пахты. Содержание массовой доли влаги в готовом продукте сохраняется максимальным в вышеуказанных образцах до конца процесса созревания. Соответственно, можно сделать заключение, что в сырах, выработанных из смеси молока с пахтой, потеря влаги происходит медленней, чем при выработке продукта из смеси молока с сывороткой.

Также была проведена оценка на соответствие органолептических показателей готового продукта по 45-балльной шкале в соответствии с требованиями ГОСТ 33630–2015 «Сыры и сыры плавленные. Методы контроля органолептических показателей». Результаты оценки представлены на рис. 2.

Наивысший балл по органолептической оценке получил образец № 3 (смесь молока с пахтой, закваской MAG для сыра Камамбер и культурой плесени *Penicillium candidum*). Высокий балл также получили образцы № 1 (смесь молока с пахтой, закваской МА мезофильных бактерий и культурой плесени *Penicillium candidum*) и № 6 (смесь молока с подсырной сывороткой, закваской MAG для сыра Камамбер и культурой плесени *Penicillium candidum*). В данных образцах оценка была ниже из-за менее выраженного запаха.

Самый низкий балл отмечен у образца № 7 (смесь молока с пахтой, закваской мезофильных бактерий и культурой плесени *Penicillium*

candidum и *Penicillium roqueforti*). Сыр имел неприятный запах, посторонний вкус, нехарактерный для сыров с плесенью. Также на разрезе сыра не проросла зеленая плесень. Но при этом продукт имел отличную консистенцию.

Исходя из анализа всех полученных данных, для дальнейшего исследования был отобран образец № 1 (смесь молока с пахтой, закваской мезофильных бактерий и культурой плесени *Penicillium candidum*), поскольку он имел показатели жира в сухом веществе и влаги, соответствующие требованиям нормативно-технической документации на протяжении всего срока хранения, а также получил высокую органолептическую оценку. Таким образом, при проведении дальнейших исследований данный образец сыра являлся опытным, в качестве контроля взяли сыр, выработанный по технологии мягкого сыра «Нежный».

Дальнейшее исследование сыров проводилось на предмет относительного состава азотистых фракций и количественного наличия в жире низкомолекулярных растворимых (масляная, капроновая) и низкомолекулярных (летучих) нерастворимых в воде жирных кислот (каприловая, каприновая). Определение указанных показателей осуществляли после процесса самопрессования в возрасте 10 и 20 суток.

Главным показателем отражения общего протеолитического процесса является прирост общего растворимого азота. В возрасте 20 суток содержание данной фракции в опытном сыре было на 10% больше относительно контрольного образца (табл. 5). Фракция небелкового фильтрата, содержащего низкомолекулярные пептиды, представляет большой интерес. Так, в исследуемых сырах, выработанных с применением плесени, более интенсивно протекал процесс протеолиза. Содержание этой фракции

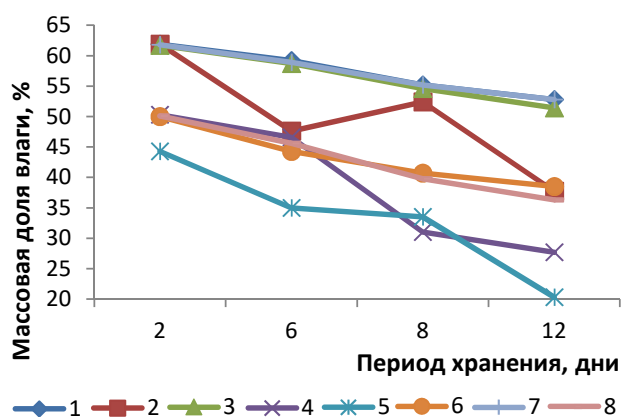


Рис. 1. Зависимость массовой доли влаги от времени созревания

Fig. 1. Relationship between the mass fraction of moisture and the ripening time

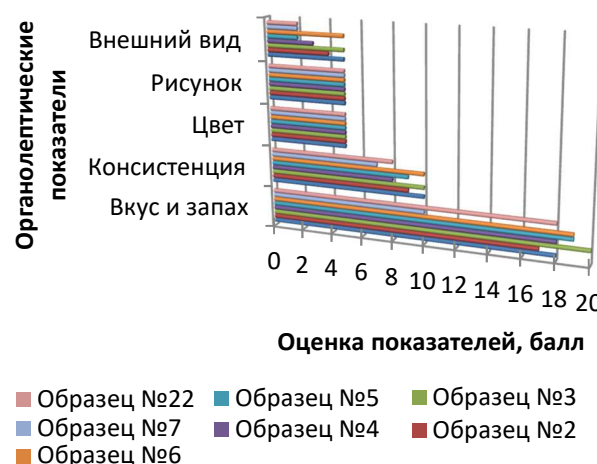


Рис. 2. Органолептическая оценка образцов сыра

Fig. 2. Organoleptic evaluation of cheese samples

Таблица 5. Изменение азотистого состава исследуемых сыров при хранении
Table 5. Changes in the nitrogen composition of the studied cheeses during storage

Образец сыра	Азот, в % от общего					
	Продолжительность хранения	Общий растворимый	Растворимый белковый	Небелковый	Полипептидов	Аминный
Опыт	После самопрессования	5,91±0,14	5,21±0,19	5,32±0,17	2,74±0,07	1,52±0,03
	10 суток	10,05±0,21	6,61±0,11	9,18±0,16	3,95±0,09	2,07±0,06
	20 суток	15,21±0,17	8,43±0,17	13,05±0,20	4,68±0,07	4,02±0,05
Контроль	После самопрессования	5,74±0,09	5,19±0,08	5,28±0,09	2,58±0,10	1,31±0,03
	10 суток	9,24±0,13	6,15±0,15	8,11±0,18	3,59±0,13	1,84±0,04
	20 суток	13,69±0,23	7,79±0,20	11,92±0,21	3,82±0,13	3,54±0,05

Таблица 6. Результаты исследования количества летучих жирных кислот в сыре
Table 6. Results of the study of LFA amount in cheese

Образец сыра	Продолжительность созревания	Водорастворимые летучие жирные кислоты	Органически растворимые летучие жирные кислоты
Опыт	После самопрессования	2,12±0,08	0,92±0,09
	10 суток	11,07±0,17	3,14±0,13
	20 суток	17,63±0,21	8,19±0,17
Контроль	После самопрессования	1,81±0,05	0,73±0,08
	10 суток	9,48±0,11	2,84±0,08
	20 суток	14,73±0,20	6,88±0,11

Таблица 7. Органолептические показатели образцов сыра
Table 7. Organoleptic parameters of cheese samples

Номер образца	Вкус и запах (max 20 б.)	Консистенция (max 10 б.)	Цвет (max 5 б.)	Внешний вид (max 5 б.)	Баллы
1	Отличный (20 б.)	Отличная (10 б.)	Равномерный (5 б.)	Характерный (5 б.)	40
2	Хороший (18 б.)	Хорошая (9 б.)	Равномерный (5 б.)	Характерный (5 б.)	37

в опытном сыре на 20,75 % больше по сравнению с контрольным образцом. Накопление фракции свободных аминокислот протекало более интенсивно при участии благородной плесени, прирост этой фракции по сравнению с сырами, в созревании которых плесень не принимает участия, составил 11,94 % (см. табл. 5, рис. 3).

Изменение содержания небелкового азота и азота аминокислот представлено на рис. 3.

Летучие жирные кислоты получали омылением жира щелочью с последующим разложением мыла серной кислотой и перегонкой образовавшихся летучих жирных кислот. Растворимые в воде кислоты перегоняли на дистилляционной установке с водяным паром, а нерастворимые – с парами этилового спирта.

Полученные результаты представлены в табл. 6.

Содержание водорастворимых летучих жирных кислот в сыре Камамбер через 20 суток после выработки составляло 17,63 единиц, что на 19,68% больше по сравнению с контрольным сыром, а органически растворимых – 8,19 единиц, что больше соответственно на 19,04 % (табл. 6, рис. 4).

Таким образом, можем отметить более интенсивный рост содержания жирных кислот в процессе созревания в сырах, выработанных с применением благородной плесени.

Тенденция к более глубоким преобразованиям азотистых соединений и жировых фракций в сырах, выработанных при участии благородной плесени, сопровождалась улучшением органолептических характеристик продукта. Оценка на соответствие органолептических показателей готового продукта была проведена по 45-балльной шкале по требованиям ГОСТ 33630–2015 «Сыры и сыры плавленые. Методы контроля органолептических показателей». Результаты оценки экспериментального образца сыра представлены в табл. 7.

Опытный сыр обладает тонким пикантным грибным вкусом и ароматом, который обусловлен действием белой плесени, что определило более высокий балл по сравнению с контрольным сыром (см. табл. 6). Консистенция сыра эластичная с мягкой сердцевиной и плотным центром, что обусловлено липолитическим и протеолитическим действием плесени.

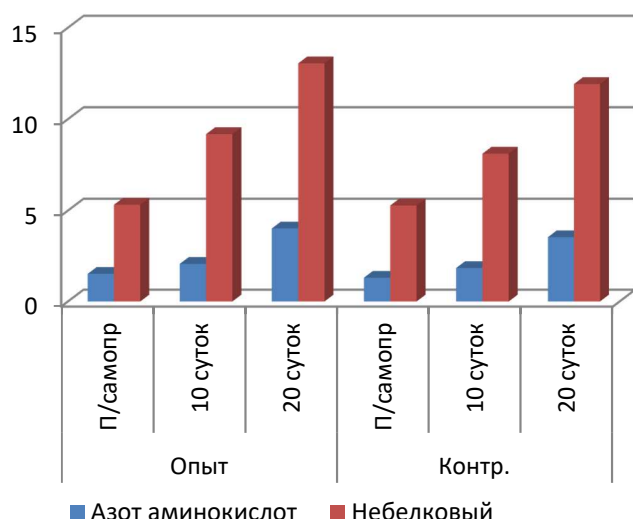


Рис. 3. Содержание небелкового азота и азота аминокислот в исследуемых сырах

Fig. 3. Content of non-protein nitrogen and amino acid nitrogen in the studied cheeses

Мягкий сыр с плесенью, полученный из смеси молока с пахтой, представляет собой круглую головку сыра, покрытую тонким слоем белой плесени. Готовый продукт заворачивается в фольгу. Продукт хранится при температуре от 0 до 6 °C и относительной влажности от 80 до 85% в течение 30 суток. После вскрытия упаковки сыр можно хранить не более 24 ч.

Разработанный по органолептическим свойствам сыр превосходит свой аналог, поэтому может быть предложен для производства на сыродельных предприятиях после разработки соответствующей технической документации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе научной работы были проведены исследования влияния вида белково-углеводного сырья, закваски и вида плесеней на физико-хими-

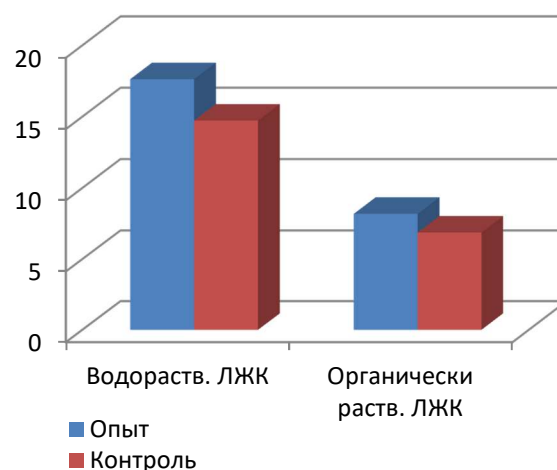


Рис. 4. Содержание водорастворимых и органически растворимых летучих жирных кислот в исследуемых сырах в возрасте 20 суток

Fig. 4. Content of water-soluble and organically soluble LFA in the studied cheeses at the age of 20 days

ческие и органолептические свойства продукта, а также определено оптимальное соотношение сырья (молоко:пахта) для выработки сыра. Готовый продукт исследован на предмет относительного состава азотистых фракций, наличие и количество летучих жирных кислот. Показано, что в опытных сырах, выработанных с применением благородной плесени, более интенсивно протекали процессы протеолиза и липолиза, что нашло свое отражение в улучшении органолептических показателей готового продукта. Полученный мягкий сыр, разработанный согласно рецептуре с использованием различных вносимых компонентов, по своим органолептическим, физико-химическим и микробиологическим характеристикам имеет уникальные показатели, пикантный грибной вкус и может быть рекомендован для производства на сыродельных предприятиях.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Щетинин М. П. Развитие отечественного сыроделия в условиях санкционной политики Евросоюза // Сыроделие и маслоделие. 2021. N 5. С. 4–7. <http://doi.org/10.31515/2073-4018-2021-5-4-7>.
2. Тиханова О. С., Полянская И. С. К юбилею Н. В. Верещагина // Сыроделие и маслоделие. 2019. N 5. С. 52–53.
3. Мордвинова В. А., Свириденко Г. М., Остроухова И. Л., Остроухов Д. В. Формирование вкуса сыров с голубой плесенью // Сыроделие и маслоделие. 2020. N 2. С. 19–21. <http://doi.org/10.31515/2073-4018-2020-2-17-19>.
4. Мусина О. Н., Сурай Н. М. Современные тенденции на российском рынке сыров // Сыроделие и маслоделие. 2021. N 2. С. 16–18. <http://doi.org/10.31515/2073-4018-2021-2-16-18>.
5. Христенко Е. И., Аглиулин С. М., Полянская И. С. Сыры с благородной плесенью и слизью // Сыроделие и маслоделие. 2021. N 4. С. 14–15.
6. Кокшарова А. Н., Полянская И. С. Органо-

- лептический анализ уникальных видов сыров // Сыроделие и маслоделие. 2020. N 6. С. 26–28. <http://doi.org/10.31515/2073-4018-2020-6-26-28>.
7. Стурова Ю. Г., Кашина Е. Д. Применение пробиотической закваски в биотехнологии мягкого сыра // Молочная промышленность. 2020. N 10. С. 49–51. <http://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-10-49-51>.
8. Стурова Ю. Г., Гришкова А. В., Коньшин В. В. Влияние пробиотических культур и липолитических ферментов на свойства молочного продукта в разрабатываемой биотехнологии сыра // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2021. T. 11. N 2. С. 290–298. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-2-290-298>.
9. Широких И. Г. Микроскопические грибы – уникальный источник биологически активных соединений // Теоретическая и прикладная экология. 2009. N 2. С. 13–20.
10. Остроухова И. Л., Мордвинова В. А., Свириденко Г. М., Остроухов Д. В., Мяконосов Д. С.

К вопросу вкусообразования сыров с белой плесенью // Сыроделие и маслоделие. 2019. N 2. С. 17–19. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2019-2-17-19>.

11. Садовая Т. Н. Исследование микроструктуры сыров с голубой плесенью // Техника и технология пищевых производств. 2010. Т. 19. N 4. С. 45–50.

12. Guarrasi V., Sannino C., Moschetti M., Bonanno A., Grigoli A. D., Settanni L. The individual contribution of starter and non-starter lactic acid bacteria to the volatile organic compound composition of Caciocavallo Palermitano cheese // International Journal of Food Microbiology. 2017. Vol. 259. P. 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.022>.

13. Зиновьева Е. Н., Королева О. А., Курбанова М. Г. Особенности микрофлоры сыров с плесенью // Агропромышленному комплексу – новые идеи и решения. 2020. С. 164–168.

14. Максуини П. Л., Фокс П. Ф., Коттер П. Д., Эверетт Д. У. Сыр. Научные основы и технологии. СПб.: Профессия, 2019. Т. 1. 556 с.

15. Орлюк Ю. Т., Степанищев М. И. Исследование протеолиза и липолиза в сырах с плесенью // Техника и технология пищевых производств. 2013. Т. 30. N 3. С. 45–48.

16. Овчарова Д. М., Стурова Ю. Г. Влияние грибковых культур на органолептические и био-

химические свойства продуктов // Современные проблемы техники и технологии пищевых производств: материалы XX Международной научно-практической конференции. Барнаул: АГТУ им. И. И. Ползунова, 2019. С. 259–261.

17. Новокшанова А. Л., Топникова Е. В., Абабкова А. А. Анализ аминокислотного состава обезжиренного молока и пахты для производства кисломолочного напитка при внесении гидролизата сывороточных белков // Вопросы питания. 2019. Т. 88. N 3. С. 90–96. <http://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10034>.

18. Вышемирский Ф. А., Ожгихина Н. Н. Пахта: минимум калорий – максимум биологической ценности // Молочная промышленность. 2011. N 9. С. 54–56.

19. Степанов К. М., Дармаева Г. Г., Ханхалдаева С. Г., Васильев С. С. Безотходная переработка молочного сырья // Молочная промышленность. 2020. N 2. С. 43–45. <http://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-02-43-44>.

20. Храмцов А. Г. Инновационные разработки в использовании молочной сыворотки // Техника и технология пищевых производств. 2018. Т. 48. N 3. С. 5–15. <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-3-5-15>.

21. Инихов Г. С., Брио Н. П. Методы анализа молока и молочных продуктов. М.: Пищевая промышленность, 1971. 423 с.

REFERENCES

1. Shchetinin M. P. Development of domestic cheese making in the context of the eu sanctions policy. *Syrodellie i maslodellie = Cheesemaking and Buttermaking*. 2021;(5):4-7. (In Russian). <http://doi.org/10.31515/2073-4018-2021-5-4-7>.

2. Tihanova O. S., Polyanskaya I. S. To the jubilee of N. V. Vereshchagin. *Syrodellie i maslodellie = Cheesemaking and Buttermaking*. 2019;(5):52-53. (In Russian).

3. Mordvinova V. A., Sviridenko G. M., Ostrouhova I. L., Ostrouhov D. V. The formation of the taste of blue cheese. *Syrodellie i maslodellie = Cheesemaking and Buttermaking*. 2020;(2):19-21. (In Russian). <http://doi.org/10.31515/2073-4018-2020-2-17-19>.

4. Musina O. N., Surai N. M. Modern trends in the Russian cheesemarket. *Syrodellie i maslodellie = Cheesemaking and Buttermaking*. 2021;(2):16-18. (In Russian). <http://doi.org/10.31515/2073-4018-2021-2-16-18>.

5. Khristenko E. I., Agliulin S. M., Polyanskaya I. S. Cheeses with noble slime and mold. *Syrodellie i maslodellie = Cheesemaking and Buttermaking*. 2021;(4):14-15. (In Russian).

6. Koksharova A. N., Polyanskaya I. S. Organoleptic analysis of unique types of cheeses. *Syrodellie i maslodellie = Cheesemaking and Buttermaking*. 2020;(6):26-28. (In Russian). <http://doi.org/10.31515/2073-4018-2020-6-26-28>.

7. Sturova Yu. G., Kashina E. D. Application of probiotic starter culture in soft cheese biotechnology. *Molochnaya promyshlennost' = Dairy Industry*. 2020;(10):49-51. (In Russian). <http://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-10-49-51>.

<http://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-10-49-51>.

8. Sturova Yu. G., Grishkova A. V., Konshin V. V. The effect of probiotic crops and lipolytic enzymes on the properties of dairy products in the cheese biotechnology under development. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021;11(2):290-298. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-2-290-298>.

9. Shirokikh I. G. Macroscopic fungi as a unique source of natural bio-active compounds. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya = Theoretical and Applied Ecology*. 2009;(2):13-20. (In Russian).

10. Ostrouhova I. L., Mordvinova V. A., Sviridenko G. M., Ostrouhov D. V., Myagkonosov D. S. To the item of taste formation in the cheese with white mould. *Syrodellie i maslodellie = Cheesemaking and Buttermaking*. 2019;(2):17-19. (In Russian). <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2019-2-17-19>.

11. Sadovaya T. N. Investigation of microstructure of cheeses with blue mold. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv = Food Processing: Techniques and Technology*. 2010;19(4):45-50. (In Russian).

12. Guarrasi V., Sannino C., Moschetti M., Bonanno A., Grigoli A. D., Settanni L. The individual contribution of starter and non-starter lactic acid bacteria to the volatile organic compound composition of Caciocavallo Palermitano cheese. *International Journal of Food Microbiology*. 2017;259:35-42. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.022>.

13. Zinov'eva E. N., Koroleva O. A., Kurbanova M. G. Features of the microflora of cheeses with mold. *Ag-*

ropromyshlennomu kompleksu – novye idei i resheniya. 2020;164-168. (In Russian).

14. Maksuini P. L., Foks P. F., Kotter P. D., Eve-rett D. U. *Cheese. Scientific foundations and technologies*. Saint-Petersburg: Professiya; 2019, vol. 1, 556 p. (In Russian).

15. Orluk U. T., Stepanischev M. I. The research of proteolysis and lipolysis in cheeses with mold. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv = Food Processing: Techniques and Technology*. 2013;30(3):45-48. (In Russian).

16. Ovcharova D. M., Sturova Yu. G. The effect of fungal cultures on the organoleptic and biochemical properties of products. In: *Sovremennye problemy tekhniki i tekhnologii pishchevykh proizvodstv: materialy XX Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Modern Problems of Technology and Technology of Food Production: Materials of the XX International Scientific and Practical Conference*. Barnaul: AGTU im. I. I. Polzunova, 2019. P. 259-261. (In Russian).

17. Novokshanova A. L., Topnikova E. V., Ababkova A. A. Analysis of amino acid composition of skim milk and

buttermilk for the production of dairy drink when introducing whey protein hydrolysate. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2019;88(3):90-96. (In Russian). <http://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10034>.

18. Vyshemirskii F. A., Ozhghina N. N. Butter-milk: minimum of calories-maximum of biological value. *Molochnaya promyshlennost' = Dairy Industry*. 2011;(9):54-56. (In Russian).

19. Stepanov K. M., Darmaeva G. G., Hanhal-daeva S. G., Vasiliev S. S. Wasteless processing of the milk raw materials. *Molochnaya promyshlennost' = Dairy Industry*. 2020;(2):43-45. (In Russian). <http://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-02-43-44>.

20. Khrantsov A. G. Innovative solutions in milk whey production. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv = Food Processing: Techniques and Technology*. (In Russian). 2018;48(3):5-15. <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-3-5-15>.

21. Inikhov G. S., Brio N. P. *Methods of analysis of milk and dairy products*. Moscow: Pishchevaya promyshlennost'; 1971, 423 p. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Ю. Г. Стурова,

к.т.н., доцент,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
656038, г. Барнаул, пр-т Ленина, 46,
Российская Федерация,
y_sturova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4492-6628>

А. В. Гришкова,

к.т.н., доцент, старший научный сотрудник
лаборатории биохимии молока
и молочных продуктов,
ФГБНУ ФАНЦА, отдел СибНИИС,
656016, г. Барнаул, ул. Советской армии, 66,
Российская Федерация;
к.т.н., доцент,
Алтайский государственный медицинский
университет,
656038, г. Барнаул, пр-т Ленина, 40,
Российская Федерация,
anastasiya-kriger@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1117-0489>

В. В. Коньшин,

д.х.н., доцент, заведующий кафедрой
химической технологии,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
656038, г. Барнаул, пр-т Ленина, 46,
Российская Федерация,
vadandral@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9335-1824>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Yuliya G. Sturova,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
y_sturova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4492-6628>

Anastasiya V. Grishkova,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Senior Researcher,
Laboratory of Biochemistry of Milk
and Dairy Products,
FSBSI FASCA, Department Siberian Research
Institute of Cheese Making,
66, Sovetskoi Armii St., Barnaul, 656016,
Russian Federation;
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Altai State Medical University,
40, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
anastasiya-kriger@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1117-0489>

Vadim V. Konshin,

Dr. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Head of the Chemical Technology Department,
Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
vadandral@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9335-1824>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 08.07.2022.

Одобрена после рецензирования 20.10.2022.

Принята к публикации 30.11.2022.

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.

Information about the article

The article was submitted 08.07.2022.

Approved after reviewing 20.10.2022.

Accepted for publication 30.11.2022.

Научная статья

УДК 633.522: 633.854.434:663.43

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-576-588>



Исследование макронутриентов семян конопли в процессе кратковременного проращивания

Ирина Эдуардовна Миневич*, Алла Павловна Нечипоренко**,
Агата Анатольевна Гончарова*, Валентин Игоревич Ущাপовский*

*Федеральный научный центр лубяных культур, г. Тверь, Российская Федерация

**Национальный исследовательский университет информационных технологий,
механики и оптики, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Миневич Ирина Эдуардовна, irina_minevich@mail.ru

Аннотация. В настоящее время семена конопли как источник питательных веществ становятся все более популярными в питании. Цель работы состояла в исследовании макронутриентов семян конопли в процессе их кратковременного проращивания химическими и спектроскопическими методами. В качестве объектов исследования использовали семена конопли посевного сорта Людмила 2021 года производства, а также пророщенные семена конопли. Проращивание семян конопли проводили в лабораторных условиях в специальных поддонах при температуре (Т) 18–20 °С с добавлением воды в соотношении 2:1. Семена проращивали в течение 5 суток при периодическом увлажнении. Совокупность полученных экспериментальных данных по изучению белкового комплекса позволила предположить, что в исследуемом интервале проращивания семян конопли основной гидролитический распад белков осуществляется наравне с изменением в структурных компонентах, в том числе и за счет синтеза новых белков, сопровождающих рост проростков. Изменения таких показателей, как содержание жира и кислотного числа, интенсивность пиков функциональных групп в области липидов (1745, 1157, 1140 см⁻¹), свидетельствуют о накоплении жирных кислот в результате процесса гидролиза триглицеридов. Анализ углеводной области (1200–680 см⁻¹) ИК-спектров пророщенных семян конопли и интенсивности полос соответствующих функциональных групп позволяет предположить интенсивное протекание гидролитического расщепления полисахаридов. Изменение содержания экстрактивных веществ в водных растворах семян пророщенной конопли свидетельствует о накоплении и использовании водорастворимых веществ на ранних этапах прорастания. Данные по преобладанию водо- и солерастворимых белковых фракций свидетельствуют о повышении биологической ценности семян конопли в процессе кратковременного проращивания.

Ключевые слова: масличные семена, кратковременное проращивание, ИК-спектроскопия, макронутриенты, белки, ненасыщенные жирные кислоты, ограниченный ферментолит

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания Федерального научного центра лубяных культур (№ FGSS-2022-0007).

Для цитирования: Миневич И. Э., Нечипоренко А. П., Гончарова А. А., Ущাপовский В. И. Исследование макронутриентов семян конопли в процессе кратковременного проращивания // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 576–588. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-576-588>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Study of macronutrients in hemp seeds during short-term germination

Irina E. Minevich*, Alla P. Nechiporenko**, Agatha A. Goncharova*,
Valentin I. Uschapovsky*

*Federal Scientific Center for Fiber Crops, Tver, Russian Federation

**National Research University of Information Technology, Mechanics and Optic,
St. Petersburg, Russian Federation

Corresponding author: Irina E. Minevich, irina_minevich@mail.ru

Abstract. At present, hemp seeds are becoming increasingly popular as a source of nutrients. This work addressed the dynamics of macronutrients in the process of short-term germination of hemp

seeds by chemical and spectroscopic methods. Lyudmila 2021 cultivated hemp seeds along with hemp sprouts were used as objects of research. The germination of hemp seeds was carried out under laboratory conditions using special trays at 18–20 °C with the water added at a ratio of 2:1 for 5 days with periodic moistening. The obtained experimental data on the protein complex suggested that, in the studied interval of the germination of hemp seeds, the key hydrolytic decomposition of proteins occurs along with changes in structural components, including through the synthesis of new proteins accompanying the sprouting. The variations in such parameters as fat content, acid number and peak intensity of functional groups in the lipid fingerprint region (1745, 1157 and 1140 cm⁻¹) indicated the accumulation of fatty acids as a result of the hydrolysis of triglycerides. The analysis of the IR spectra of hemp sprouts and the intensity of the bands of the corresponding functional groups in the carbohydrate region (1200–680 cm⁻¹) suggested the intensive hydrolytic decomposition of polysaccharides. The variation in the content of extractive matter in the aqueous solutions of hemp sprouts indicated the accumulation and utilisation of water-soluble substances at the early stages of germination. The data on the predominance of water- and salt-soluble protein fractions indicated an increase in the biological value of hemp seeds during short-term germination.

Keywords: oilseeds, short-term germination, IR spectroscopy, macronutrients, proteins, unsaturated fatty acids, limited enzymatic hydrolysis

Funding. This work was supported by the Russian Ministry of Education and Science under the State Assignment of the Federal Research Center for Bast Crops (no. FGSS-2022-0007).

For citation: Minevich I. E., Nechiporenko A. P., Goncharova A. A., Uschapovsky V. I. Study of macronutrients in hemp seeds during short-term germination. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):576-588. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-576-588>.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время возобновился глобальный интерес к древнейшей сельскохозяйственной культуре – конопле – как к многофункциональному промышленному сырью, что стало возможным благодаря созданию сортов технической конопли с низким содержанием тетрагидроканнабинола (ТГК) (0,1–0,3%), легализации возделывания и переработки такого сырья. Техническую коноплю как сельскохозяйственную культуру широко используют страны с развитой экономикой¹. Спектр применения продуктов переработки конопли посевной в мировой экономике постоянно расширяется, разрабатываются технологии производства изделий для применения в инновационных сферах промышленности. Конопля становится стратегической культурой, выращивание и переработка которой являются важными направлениями экономической политики правительств многих развитых стран и инвестиций частного бизнеса. В мире выпускается более 300 видов продуктов на основе технической конопли².

Техническая конопля выращивается как для получения волокна, так и для производства про-

дуктов питания (семена), используется в косметике, а также в лечебных и фармацевтических целях [1, 2].

В Российской Федерации законодательно разрешено возделывать в промышленных масштабах сорта конопли посевной (*Cannabis sativa* L.), содержащие в сухой массе листьев и соцветий растения не более 0,1% ТГК³, в отличие от других стран, где этот показатель составляет ≤0,3%. В российский Государственный реестр селекционных достижений включен 31 сорт технической конопли посевной, из которых 13 сортов предназначены на семена, 11 – двойного назначения (волокно и семена)⁴. Следует отметить, что ТГК, как и другие каннабиноиды, не присутствуют в семенах конопли и конопляном масле, а содержатся в соцветиях и листьях конопли.

Семена конопли относятся к масличным культурам. Химический состав семян конопли варьируется в зависимости от генотипа, климатических условий, агрохимических факторов (%): жир – (30–34), белок – (22–26), углеводы (кроме целлюлозы) – (18–20), целлюлоза – (17–19), зола – (4–6), вода – (4–6) [3–6].

¹ Конопля в Европе и мире // Росленконопля: сайт о льне и конопле. URL: <https://www.rosflaxhemp.ru/fakti-i-cifri/spravochnie-materiali.html/id/1761> (11.08.2022).

² Коноплеводство в РФ: хорошо забытое старое или вызов мирового рынка? // Smartconsult. URL: <https://marketing.rbc.ru/articles/12426/> (11.08.2022).

³ Постановление Правительства РФ от 6 февраля 2020 г. № 101 «Об установлении сортов наркосодержащих растений, разрешенных для культивирования для производства используемых в медицинских целях и (или) ветеринарии наркотических средств и психотропных веществ, для культивирования в промышленных целях, не связанных с производством или изготовлением наркотических средств и психотропных веществ, а также требований к сортам и условиям их культивирования» // СПС «КонсультантПлюс». URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_344925/ (11.08.2022).

⁴ Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. М.: ФГБНУ «Росинформатех», 2021. Т. 1. Сорта растений. С. 142–143.

В настоящее время семена конопли как источник питательных веществ, содержащий все незаменимые аминокислоты и полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) в количественном соотношении, достаточном для удовлетворения пищевых потребностей человека, становятся все более популярными в питании. Они также являются источником легкоусвояемой клетчатки и широкого спектра биологически активных веществ, минералов и витаминов [7–10].

Масло семян конопли характеризуется сбалансированным соотношением и уникальной композицией эссенциальных ПНЖК. В нем преобладает (более 50%) линолевая кислота (LA), относящаяся к ПНЖК ω -6. Второй по содержанию (18–20%) эссенциальной жирной кислотой является α -линоленовая кислота (ALA), которая относится к ПНЖК ω -3. Их соотношение варьируется от 3:1 до 5:1, что соответствует рекомендованному ФАО/ВОЗ и Европейским агентством по пищевым продуктам и безопасности (EFSA) [11]. Соотношение ω -6: ω -3 ПНЖК определяет состояние липидного обмена, степень предрасположенности к сердечно-сосудистым и многим другим заболеваниям. На генном уровне ПНЖК ω -3 и ω -6 контролируют генную экспрессию в различных органах и тканях [12].

В отличие от большинства растительных масел в липидном составе семян конопли присутствует стеаридониковая кислота (цис-6,9,12,15-октадекатетраеновая, SDA) – ПНЖК ω -3, которая позволяет обойти первую критическую ферментативную стадию δ -6-десатуразы, облегчая превращение длинноцепочечных ПНЖК в биологически активную форму [13–15]. Стеаридониковая кислота (C18:4 n3) является промежуточной жирной кислотой при биосинтезе от α -линоленовой кислоты до длинноцепочечных ПНЖК ω -3, и преобразование из SDA протекает более эффективно, чем из ALA [16]. Поэтому одним из направлений селекции сортов конопли масличного направления является повышение содержания стеаридониковой кислоты [6].

Семена конопли остаются недооцененными в качестве источника пищевого белка. В белковом комплексе семян конопли преобладающей фракцией является глобулиновая, основу которой составляет белок эдестин. Эдестин легко ассимилируется, имеет сходство с альбуминами крови и куриных яиц, что свидетельствует о его высокой питательной ценности [17]. Белки семян конопли содержат весь спектр незаменимых аминокислот, необходимых для питания взрослых и детей. При этом лизин является лимитирующей кислотой, его аминокислотный скор варьируется, по данным ряда авторов, от 0,75 до 0,62 [18–20]. У них выявлен широкий спектр биологической активности, усиливаемой после частичного гидролиза различными протеазами, в том числе антиоксидантная активность, антигипертензивное действие [21, 22].

Анализ опубликованных данных показал, что семена конопли являются биологически актив-

ным растительным сырьем, которое необходимо использовать для расширения ассортимента продуктов здорового питания.

Доступным и экономически приемлемым способом максимальной реализации биохимического потенциала семян конопли и повышения их питательной ценности является способ кратковременного проращивания.

Проращивание семян/зерна как первая физиологическая стадия жизненного цикла растения важна не только для культивирования, но и имеет практическую значимость для повышения питательной ценности при их использовании в качестве пищевого сырья. Ранняя стадия проращивания семян включает набухание и последующий процесс водопоглощения, который способствует повышению метаболической активности в протоплазме семени [23]. В результате активизации ферментной системы самого сырья и, как следствие, протекания биохимических процессов происходит увеличение водорастворимых белковых фракций, накопление свободных аминокислот и жирных кислот, а также легкорастворимых редуцирующих сахаров, что приводит к повышению пищевой ценности сырья и улучшению функциональных свойств заключенного в нем белка [24–26].

Несмотря на значимые результаты в области биохимии проращивания, процессы синтеза и распада азотистых, углеводных и липидных компонентов неоднозначны и индивидуальны для семян сельскохозяйственных культур.

При этом практическое значение имеет определение продолжительности процесса, при котором конкретное сырье обладает повышенной биологической активностью за счет накопления продуктов гидролитического расщепления биополимеров. В связи с этим актуальны исследования динамики макронутриентов конкретного сырья в процессе проращивания.

Цель работы состояла в исследовании макронутриентов семян конопли в процессе их кратковременного проращивания химическими и спектроскопическими методами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объектов исследования использовали семена конопли посевного сорта Людмила 2021 года производства, полученные из лаборатории агротехнологий обособленного подразделения «Пензенский ИСХ» Федерального научного центра лубяных культур, а также пророщенные семена конопли.

Семена конопли имели следующие показатели: содержание белка – 20,88%; содержание жира – 26,48%; содержание влаги – 5,46%; кислотное число – 0,96.

Проращивание семян конопли проводили в лабораторных условиях в специальных поддонах при температуре (Т) 18–20 °С с добавлением воды в соотношении 2:1. Семена проращивали в течение 5 суток при периодическом увлажнении.

Проросшие семена конопли представляли со-

бой набухшие семена с белыми проростками от 2 до 7 мм длиной. Процесс проращивания семян прекращали сушкой до влажности не более 5%. Отбор проб пророщенных семян проводили каждые сутки. Продукты хранили при $T = 4^\circ\text{C}$.

В работе определяли следующие показатели: кислотное число (ГОСТ 31700-2012), содержание жира (ГОСТ 10857-64), содержание белка (ГОСТ 10846-91), влажность (ГОСТ 10856-96).

Выделение водорастворимых веществ из пророщенных семян конопли проводили водной экстракцией при следующих условиях: гидромодуль – 10, $T = 40^\circ\text{C}$, время – 1 ч. После отделения водного экстракта от семян определяли сухой остаток.

Фракционный состав белкового комплекса исходных и пророщенных семян льна устанавливали по методу Ермакова⁵: последовательной экстракцией дистиллированной водой, 7%-м раствором NaCl и 0,1 М раствором NaOH. Высаживание белков производили 5%-м раствором трихлоруксусной кислоты.

Колебательные спектры образцов (32 скана) получали методом ИК-спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) на Фурье-спектрометре Tensor 37 (Bruker, Германия) с алмазным НПВО-элементом, управляемым программным пакетом OPUS со стандартными градуировочными возможностями, в диапазоне частот 4000–600 cm^{-1} в формате поглощения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проращивание как процесс можно разделить на несколько этапов: замачивание, набухание, рост проростков. При замачивании оболочка семени в результате частичного растворения пропитывающих ее веществ становится проницаемой для воды. Проникающая вода адсорбируется высокомолекулярными веществами эндосперма и зародыша. При этом степень поглощения воды определяется природой биополимеров. В семени, находящемся в воздушно-сухом состоянии, они представляют собой высохшие коллоидные студни и поэтому обладают высокой водопоглощающей способностью. Белковые вещества адсорбируют до 180% воды, крахмал – до 70%, целлюлоза – до 30% в расчете на сухое вещество. Поэтому в зависимости от химического состава количество поглощаемой семенами (зерном) воды различно. Так, пшеница поглощает около 46% воды от своей массы, кукуруза – 44%, овес – 60%, рожь – 60%, конопля – 44%, мак – 91%, подсолнечник – 56%⁶.

При увлажнении семян сразу же начинается их набухание, затем происходит активизация предшествующих ферментов и синтез ферментов, определяющих начало гидролитических процессов. Эти и другие процессы (увеличение содержания осмотически активных веществ, подкисление оболочек клеток и др.) создают предпосылки для

начала роста зародыша. На следующем этапе начинается рост зародышевых осей и выход корешка. При этом сначала используются собственные питательные вещества, а затем происходит мобилизация питательных веществ запасующих органов (семядолей или эндосперма).

Визуальные изменения семени конопли, происходящие при кратковременном проращивании, представлены на рис. 1.

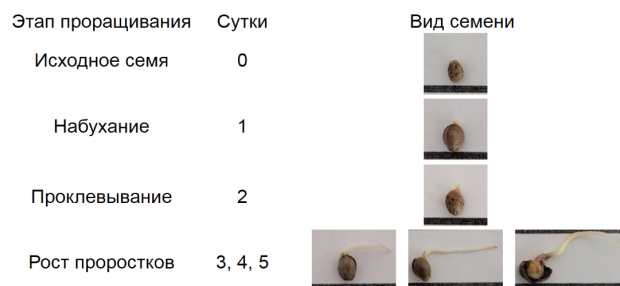


Рис. 1. Визуальные изменения семени конопли в процессе проращивания

Fig. 1. Visual changes in hemp seeds during germination

Активное поглощение воды, набухание коллоидов, создание высокого осмотического давления внутри клеток, которое обусловлено растворимыми внутриклеточными веществами, приводит к увеличению объема семени. В среднем объем набухшего семени в 1,5–2 раза больше исходного. За 5 суток семена конопли прошли все начальные этапы прорастания – от набухания до роста проростков, что продемонстрировано на рис. 1.

Прирост массы семян конопли в процессе проращивания за счет поглощения воды происходит с разной интенсивностью, что представлено на рис. 2.

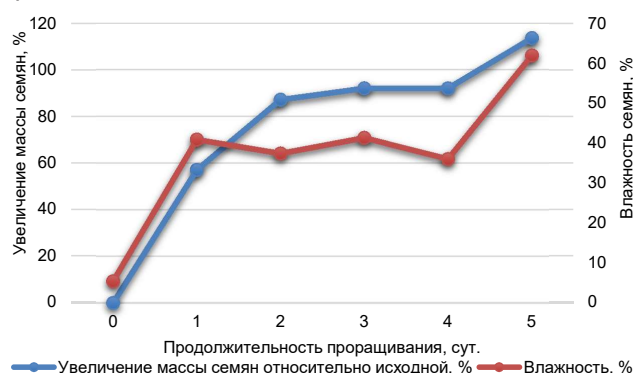


Рис. 2. Увеличение массы семян конопли и их влажность в процессе проращивания

Fig. 2. Increase in hemp seeds mass and their moisture during germination

В течение первых 2-х суток происходит интенсивное увеличение массы семян. В интервале последующих 2–4-х суток меняются процессы, снижается скорость повышения массы семян за

⁵ Методы биохимического исследования растений / под ред. А. И. Ермакова. Л.: Агропромиздат. Ленингр. отделение, 1987. 430 с.

⁶ Козьмина Н. П., Гуныкин В. А., Суслынок Г. М. Теоретические основы прогрессивных технологий (Биотехнология). Зерноведение (с основами биохимии растений). М.: Колос, 2006. 464 с.

счет удержания влаги. Практически аналогично изменяются значения влажности семян, о чем свидетельствуют графики (см. рис. 2). Вероятно, это связано с содержанием и природой водорастворимых веществ семян.

В соответствии с современными представлениями в условиях высокой влажности некоторые составные части семени (углеводы – сахара, пентозаны; азотистые и минеральные вещества) переходят в растворимое состояние и частично диффундируют в замочную воду. Это способствует оживлению зародыша, который для своей жизнедеятельности начинает активно использовать появившиеся растворимые и усвояемые питательные вещества. Активизирующиеся гидролитические ферменты диффундируют в эндосперм, где начинают катализировать гидролиз части высокомолекулярных веществ. С поглощением воды зародыш начинает потреблять накопленные в нем сахара еще до того, как соответствующие ферменты поступят в эндосперм и путем гидролиза дадут новые порции питательных веществ зародышу. На этом этапе, в данном случае 2–4-х суток проращивания (см. рис. 2), прирост массы семени за счет поступления воды приостанавливается. Предполагается, что в этот так называемый лаг-период в семенах происходит перестройка метаболического аппарата, возрастает содержание осмотически активных веществ, идет подкисление оболочек клеток, т. е. создаются условия для роста зародыша.

Об изменении содержания водорастворимых веществ в процессе кратковременного проращивания судили по сухому остатку водного экстракта семян конопли. Динамика водорастворимых веществ в течение 5 суток проращивания представлена на рис. 3. Можно предположить, что на третьи сутки происходит активный рост проростков в результате интенсивного использования перешедших в водную среду питательных веществ, о чем также свидетельствует внешний вид семян конопли, представленный на рис. 1.



Рис. 3. Динамика водорастворимых веществ в процессе кратковременного проращивания семян конопли

Fig. 3. Dynamics of water-soluble substances in short-term germination of hemp seeds

Все изменения, происходящие в семенах конопли, свидетельствуют о периодичности протекающих процессов в прорастающих семенах (рис. 4).

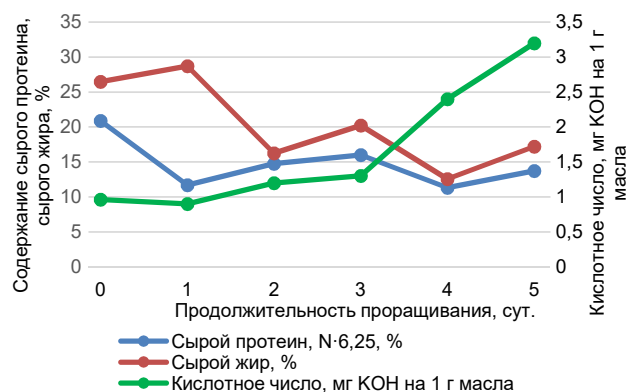


Рис. 4. Изменение показателей семян конопли в процессе проращивания

Fig. 4. Changes in the parameters of hemp seeds during germination

В результате интенсивного поглощения воды запускаются процессы гидролиза азотистых соединений, особенно белков, до свободных аминокислот, которые затем расходуются на создание новых белковых соединений. Вероятно, при проращивании семян конопли синтез белков начинается на 2-е сутки, о чем свидетельствует рост значений содержания протеина. Можно предположить, что в исследуемом интервале проращивания семян конопли основной гидролитический распад белков осуществляется наравне с изменением в структурных компонентах, в том числе и за счет синтеза новых белков, сопровождающих рост проростков. Этим можно объяснить колебания показателя содержания сырого протеина при проращивании семян конопли в первые 5 суток (см. рис. 4). На каждой стадии прорастания протекают процессы, связанные с изменением состава и состояния питательных веществ в семени.

Соотношение белковых фракций в этот исследуемый период проращивания изменялось, как это показано на рис. 5.

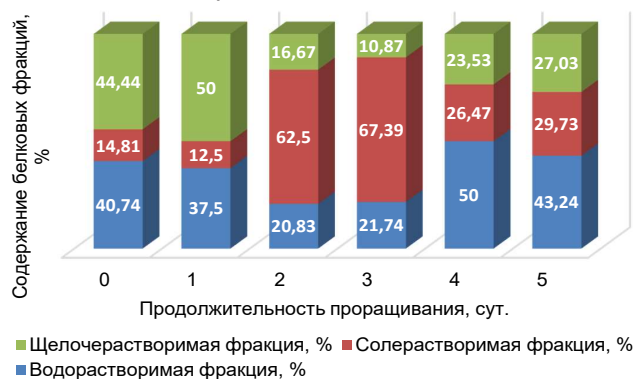


Рис. 5. Изменение фракционного состава белкового комплекса семян конопли на ранних стадиях проращивания

Fig. 5. Changes in the fractional composition of the hemp seeds protein complex at the early stages of germination

Исходные семена характеризовались преобладающим суммарным содержанием водо- и солерастворимой белковых фракций. В процессе проращивания наблюдался резкий рост их суммарного содержания. При этом соотношение альбуминов и глобулинов варьировалось в исследуемый период.

Содержание сырого жира, как видно из рис. 4, также подвержено колебаниям в исследуемом временном интервале проращивания. Несмотря на тенденцию снижения содержания сырого жира в семенах конопли, этот процесс протекает с определенной периодичностью. Распад жиров, в отличие от протеолиза белков, является более сложным многостадийным процессом [27]. При проращивании масличных семян основным обменным процессом считается превращение жира в сахар: протекает гидролиз триглицеридов с образованием свободных жирных кислот и глицерина, который через последовательность реакций гликолиза превращается в сахара.

Кислотное число масла, характеризующее содержание свободных жирных кислот, резко увеличивается на 4–5-й день проращивания (в 3,3 раза). Это свидетельствует об интенсификации процесса гидролиза триглицеридов.

Исследование оптических свойств высушенных и измельченных семян конопли, прошедших этапы набухания и кратковременного проращивания, методом Фурье-ИК-спектроскопии (рис. 6) также показало, что все основные вещества, содержащиеся в исходных семенах, претерпевают значительные изменения, которые носят экстремальный характер, изменяя фактуру спектра. Для разных компонентов (белки, липиды, углеводы) изменения при проращивании происходят неоднозначно. Однако уже по общему рисунку полос ($1200\text{--}950\text{ см}^{-1}$) видно, что наибольшие различия наблюдаются в липидно-углеводной зоне.

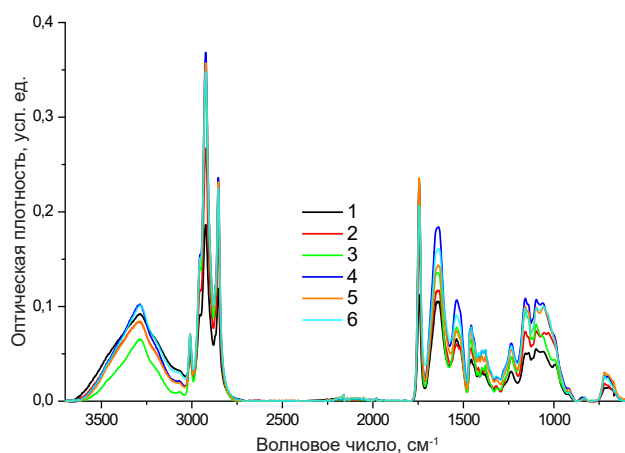


Рис. 6. ИК-спектры исходных и пророщенных семян конопли: 1 – исходные; пророщенные: 2 – 1 сутки, 3 – 2 суток, 4 – 3 суток, 5 – 4 суток, 6 – 5 суток

Fig. 6. IR spectra of initial and germinated hemp seeds: 1 – initial; germinated: 2 – 1 day, 3 – 2 days, 4 – 3 days, 5 – 4 days, 6 – 5 days

Более наглядно увидеть изменения, имеющие место в результате сложных и многообразных биохимических процессов при проращивании семян, позволяют увеличенные фрагменты наиболее информативных участков спектров, представленные на рис. 7. Обращает на себя внимание то, что большинство полос на протяжении эксперимента сохраняет стабильность своего положения. Однако при этом иногда меняется последовательность расположения спектральных кривых, что может указывать на периодичность взаимосвязанных процессов, протекающих в оживающей биологической системе.

При анализе рисунка полос Амид-1 и Амид-2 (рис. 7, а), характеризующих C=O -группировки всей совокупности белковых компонентов, можно отметить, что уширение максимумов указывает на их сложный состав. Однако смещение правой ветви полосы Амид-1 в положение 1630 см^{-1} может свидетельствовать об увеличении доли глобулинов после 3-х суток проращивания. С этого момента начинает наблюдаться и периодичность в относительном положении спектральных кривых. Однако последовательность расположения кривых в полосе (рис. 7, б), характеризующей асимметричные (3286 см^{-1}) и симметричные (3268 см^{-1}) колебания NH -группировок пептидной связи, заметно отличается от последовательности кривых (см. рис. 7, а). Наблюдается снижение интенсивности обеих полос за первые 2-е суток, в отличие от амидных полос, и повторение характера их периодичности при проращивании в последующие. Здесь очевидно просматривается изменение в структурных характеристиках белковых компонентов при гидролитическом распаде в процессе набухания.

Анализ полос, дающих представление о динамике изменения оптических свойств липидных компонентов, представленных в разных областях спектра, позволяет отметить следующее: скорость изменения интенсивности полосы 1745 см^{-1} , характеризующей C=O -функционалы карбоксильных (COOH) групп жирных кислот (см. рис. 7, а), полосы 3008 см^{-1} (рис. 7, с), ответственной за проявление валентных колебаний C-H -групп при двойной связи (CH=CH) ненасыщенных жирных кислот, дублета полос $1157/1140\text{ см}^{-1}$ (рис. 7, д), указывающих на соотношение соответственно коротко- и длинноцепочечных жирных кислот, и слабой полосы 720 см^{-1} , отвечающей деформационным колебаниям CH -групп при двойной связи (см. рис. 7, д), значительна в первые 3-е суток, а затем по приведенным на всех фрагментах данным падает, но на обоих этапах сохраняется последовательность расположения кривых, отмеченная для белков.

В углеводной части спектра на протяжении всего эксперимента очень наглядно изменя-

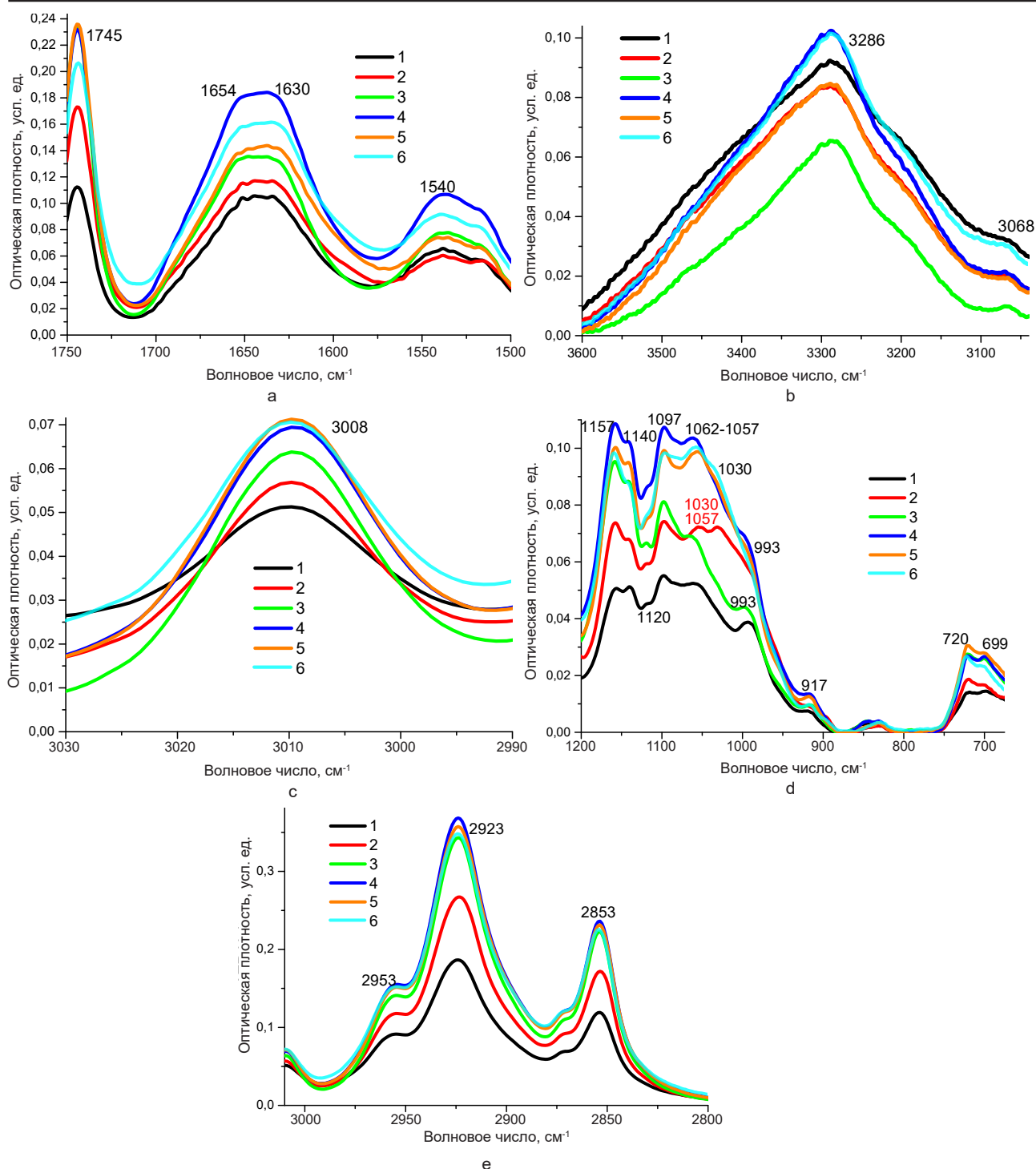


Рис. 7. Фрагменты ИК-спектров семян конопли (см⁻¹): а – 1750–1500; б – 3600–3050; с – 3030–2990; д – 1200–680; е – 3050–2800: 1 – исходные; пророщенные: 2 – 1 сутки, 3 – 2 суток, 4 – 3 суток, 5 – 4 суток, 6 – 5 суток

Fig. 7. Fragments of IR spectra of hemp seeds (cm⁻¹): а – 1750–1500; б – 3600–3050; с – 3030–2990; д – 1200–680; е – 3050–2800: 1 – initial; germinated: 2 – 1 day, 3 – 2 days, 4 – 3 days, 5 – 4 days, 6 – 5 days

ется рисунок полос 1097 и 1062–1057 см⁻¹ и их интенсивность (см. рис. 7, d). В данном случае, как и для дублета липидов, характерные качественные изменения наступают уже через сутки набухания (кривые 1 и 2). Через 2-е суток при увеличении интенсивности полосы 1097 см⁻¹ снижается полоса 1057 см⁻¹ и резко падает 1030 см⁻¹,

которая в спектрах образцов, полученных на 3–5-е сутки, трансформируется в слабо выраженное плечо на правой ветви. При этом в спектрах образцов 3–5 суток снова формируется двойная полоса, в которой отмечено движение по изменению интенсивности. На 3-и сутки в сформировавшемся дублете доминирует полоса

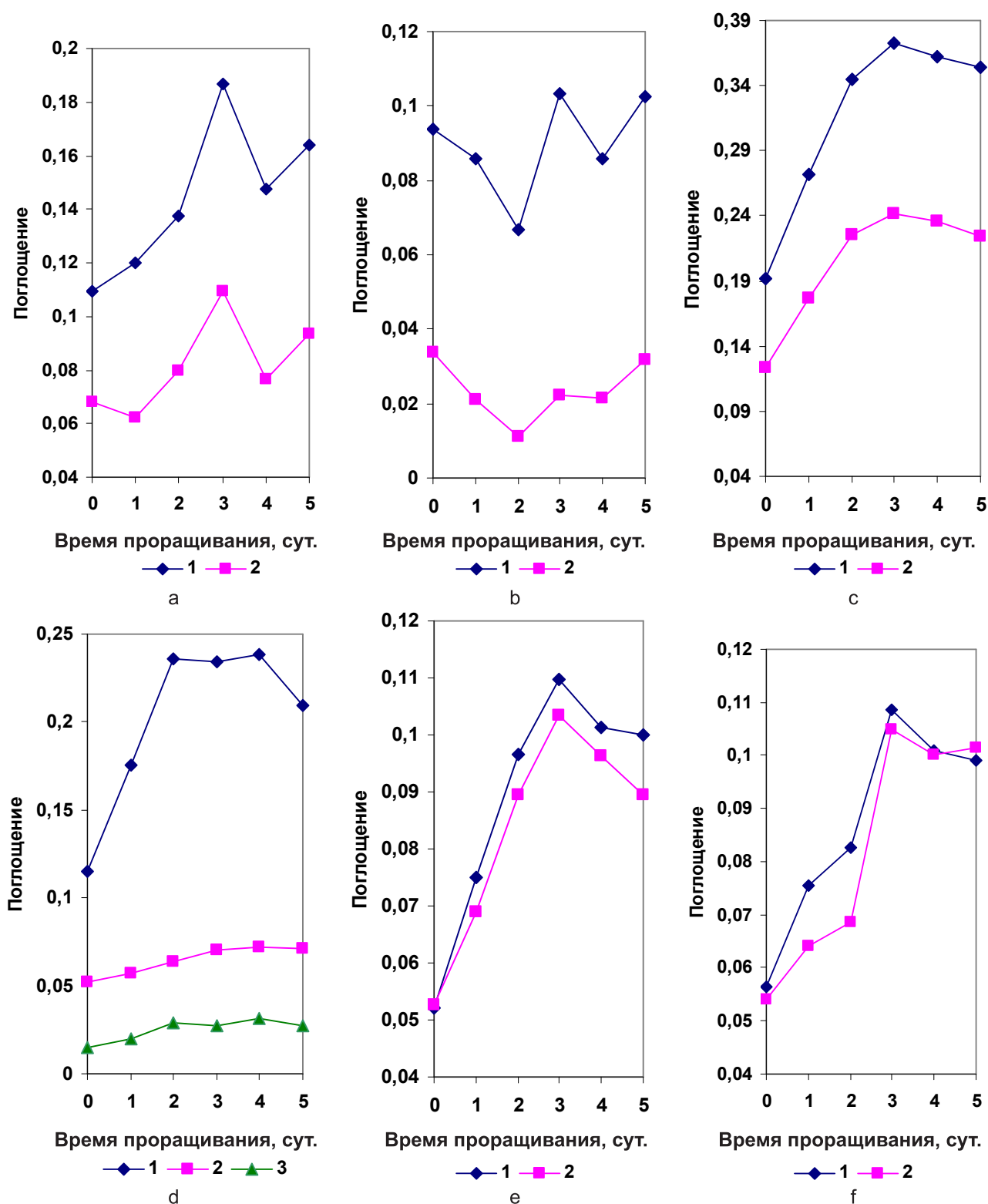


Рис. 8. Изменения интенсивности полос функциональных групп в спектрах образцов семян конопли в зависимости от времени их проращивания (cm^{-1}):

a) 1 – 1642, 2 – 1540; б) 1 – 3286, 2 – 3068; в) 1 – 2923, 2 – 2853;
 д) 1 – 1745, 2 – 3008, 3 – 720; е) 1 – 1157, 2 – 1140; ф) 1 – 1097, 2 – 1053

Fig. 8. Changes in the intensity of bands of functional groups in the spectra of hemp seeds samples depending on the time of their germination (cm^{-1}):

a) 1 – 1642, 2 – 1540; б) 1 – 3286, 2 – 3068; в) 1 – 2923, 2 – 2853;
 д) 1 – 1745, 2 – 3008, 3 – 720; е) 1 – 1157, 2 – 1140; ф) 1 – 1097, 2 – 1053

1097 cm^{-1} , на 4-е интенсивности полос выравниваются, а на 5-е сутки в спектре начинает лидировать полоса 1057 cm^{-1} . Отмеченные особенности говорят о наиболее выраженных изменениях качественного состава именно углеводных компонентов, что может указывать на зависимость как от начинающихся работать ферментов, так и от претерпевающих биохимические изменения белков и липидов. На это указывает и изменение статуса полосы 993 cm^{-1} , которая, как и полоса 917 cm^{-1} , характерна для гликопиранозных колец сахаридов, в том числе и целлобиозы, являющейся структурным элементом целлюлозы любой природы.

Отмеченное позволяет высказать мнение о том, что углеводы при исследовании методом ИКС НПВО могут служить неплохим индикатором доминирующей роли тех или иных процессов, тех или иных компонентов, параметров или факторов на разных этапах проращивания семян.

На рис. 7, е проиллюстрировано изменение спектральных характеристик асимметричных и симметричных CH_2 -группировок, обусловленных всеми компонентами семян конопли. Характер изменения последовательности расположения спектров тот же, что для белков (см. рис. 7, а) и липидов (см. рис. 7, d), но по скорости изменения интенсивности полос через 3-е суток они ближе к липидам. Это позволяет говорить о том, что данный фрагмент в большей мере отражает изменения в липидных компонентах.

Как отмечалось выше, периодичность процессов, происходящих при проращивании семян конопли, отражается в изменении интенсивности полос основных функциональных группировок в зависимости от продолжительности проращивания. На рис. 8 показана динамика изменения интенсивности комплекса курируемых полос для всех основных компонентов. Общий взгляд на кривые фрагментов рисунка говорит о том, что:

- переломным моментом для всех наблюдаемых, хотя и неоднозначных процессов являются 3-и сутки;

- в течение 3-х суток все основные компоненты, которые позволяет курировать метод, с разной скоростью, но увеличиваются по содержанию, особенно это заметно по полосе 1745 cm^{-1} , свидетельствующей об увеличении жирных кислот (рис. 8, d), причем с несколько большим содержанием короткоцепочечных (рис. 8, e), что подчеркивают и кривые фрагмента «с»;

- в течение первых 2-х суток несколько запаздывают белки, что может быть обусловлено их деструкцией, гидролитическим распадом при набухании, на это есть указания кривых рис. 8, b – снижение количества NH -группировок пептидной связи;

- несколько обособленно стоят углеводы. Хотя характер их кривых ближе к липидам, есть основания полагать, что динамика гидролитического расщепления полисахаридов и их преобразования может быть обусловлена в данный период более низкой скоростью деструкции белковых

структур, с которыми они образуют сложные комплексы – гликопротеины.

При этом следует отметить относительную стабильность интенсивности полос, относящихся к функциональным группам непредельных жирных кислот (3008, 720 cm^{-1}).

Таким образом, периодичность в изменении интенсивности полос ИК-спектров функциональных групп белков, углеводов и общих липидов в общем коррелирует с данными химического анализа (см. рис. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование биохимического состава семян конопли в процессе кратковременного проращивания, проведенное химическими методами и методом ИКС НПВО, показало периодичность в изменениях основных макронутриентов семян льна, при этом переломным моментом для всех наблюдаемых, хотя и неоднозначных процессов стали 3-и сутки.

Совокупность полученных экспериментальных данных по изучению белкового комплекса позволяет предположить, что в исследуемом интервале проращивания семян конопли основной гидролитический распад белков осуществляется наравне с изменением в структурных компонентах, в том числе и за счет синтеза новых белков, сопровождающих рост проростков.

Изменения таких показателей, как содержание жира и кислотного числа, интенсивность пиков функциональных групп в области липидов (1745, 1157, 1140 cm^{-1}), свидетельствуют о накоплении жирных кислот в результате процесса гидролиза триглицеридов.

Изменение содержания экстрактивных веществ в водных растворах семян пророщенной конопли свидетельствует о накоплении и использовании водорастворимых веществ на ранних этапах прорастания.

Данные по преобладанию водо- и солерастворимых белковых фракций в результате резкого повышения содержания глобулинов свидетельствуют о повышении биологической ценности семян конопли в процессе кратковременного проращивания.

Анализ углеводной области (1200–680 cm^{-1}) ИК-спектров пророщенных семян конопли и интенсивности полос соответствующих функциональных групп позволяет предположить интенсивное протекание гидролитического расщепления полисахаридов.

Таким образом, семена конопли на раннем этапе проращивания содержат набор биологически активных веществ, обеспечивающий выход и активное прорастание проростка. Такие семена являются ценным ингредиентом для создания продуктов здорового питания с повышенным содержанием хорошо растворимых белков, свободных аминокислот и жирных кислот. Наличие указанных активных компонентов повышает питательную ценность и усвояемость целевой продукции.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Schultz C. J., Lim W. L., Khor S. F., Neumann K. A., Schulz J. M., Ansari O., et al. Consumer and health-related traits of seed from selected commercial and breeding lines of industrial hemp *Cannabis sativa* L. // Journal of Agriculture and Food Research. 2020. Vol. 2. P. 100025. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2020.100025>.
2. Fike J. Industrial hemp: renewed opportunities for an ancient crop // Critical Reviews in Plant Sciences. 2016. Vol. 35, no. 5-6. P. 406–424. <https://doi.org/10.1080/07352689.2016.1257842>.
3. Irakli M., Tsaliki E., Kalivas A., Kleisaris F., Sarrou E., Cook C. M. Effect of genotype and growing year on the nutritional, phytochemical, and antioxidant properties of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds // Antioxidants. 2019. Vol. 8. P. 491. <https://doi.org/10.3390/antiox8100491>.
4. Vonpartis E., Aubin M.-P., Seguin P., Mustafa A. F., Charron J.-B. Seed composition of ten industrial hemp cultivars approved for production in Canada // Journal of Food Composition and Analysis. 2015. Vol. 39. P. 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.11.004>.
5. Lan Y., Zha F., Peckrul A., Hanson B., Johnson B., Rao J., et al. Genotype x environmental effects on yielding ability and seed chemical composition of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) varieties grown in North Dakota, USA // Journal of the American Oil Chemists' Society. 2019. Vol. 96. P. 1417–1425. <https://doi.org/10.1002/aocs.12291>.
6. Шеленга Т. В., Григорьев С. В., Батулин В. С., Сарана Ю. В. Биохимическая характеристика семян конопли (*Canabis sativa* L.) из различных регионов России // Аграрная Россия. 2011. N 2. С. 6–9.
7. Frassinetti S., Moccia E., Caltavuturo L., Gabriele M., Longo V., Bellani L., et al. Nutraceutical potential of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds and sprouts // Food Chemistry. 2018. Vol. 262. P. 56–66. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.078>.
8. Leonard W., Zhang P., Ying D., Fang Z. Hempseed in food industry: nutritional value, health benefits, and industrial applications // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2020. Vol. 19, no. 1. P. 282–308. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12517>.
9. Cerino P., Buonerba C., Cannazza G., D'Auria J., Ottoni E., Fulgione A., et al. A review of hemp as food and nutritional supplement // Cannabis and Cannabinoid Research. 2021. Vol. 6, no. 1. P. 19–27. <https://doi.org/10.1089/can.2020.0001>.
10. Barčauskaitė K., Žydelis R., Ruzgas R., Bakšinskaitė A., Tilvikienė V. The seeds of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) a source of minerals and biologically active compounds // Journal of Natural Fibers. 2022. <https://doi.org/10.1080/15440478.2022.2084486>.
11. EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies) scientific opinion of the panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from European Commission related to labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids // EFSA Journal. 2009. Vol. 8, no. 3. P. 1461. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1461>.
12. Васильев А. В., Шаранова Н. Э., Кулакова С. Н. Нутриметаболизм – новый этап развития биохимии питания. Роль нутрилипидных исследований // Вопросы питания. 2014. Т. 83. N 1. С. 4–11. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2014-00001>.
13. Farinon B., Molinari R., Costantini L., Merendino N. The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): nutritional quality and potential functionality for human health and nutrition // Nutrients. 2020. Vol. 29, no. 12. P. 1935. <https://doi.org/10.3390/nu12071935>.
14. Зеленина О. Н., Серков В. А. Жирнокислотный состав масла семян новых сортов и гибридов среднерусской конопли // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. 2011. N 2. С. 77–79.
15. Гущина В. А., Смирнов А. Д., Сологуб Н. Н., Сологуб И. И. Жирнокислотный состав масла семян конопли посевной при ее возделывании в лесостепи Среднего Поволжья // Аграрный научный журнал. 2022. N 4. С. 4–8. <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2022i4pp4-8>.
16. Walker C. G., Jebb S. A., Calder P. C., Phil D. Stearidonic acid as a supplemental source of ω -3 polyunsaturated fatty acids to enhance status for improved human health // Nutrition. 2013. Vol. 29, no. 2. P. 363–369. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2012.06.003>.
17. Сухорада Т. И., Проудак М. Н., Герасимова А. С., Семенин С. А., Шабельный М. М. Новый сорт конопли масличного направления Омегадар-1 // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2009. N 1. С. 147–150.
18. Wang X.-S., Tang C.-H., Yang X.-Q., Gao W.-R. Characterization, amino acid composition and in vitro digestibility of hemp (*Cannabis sativa* L.) proteins // Food Chemistry. 2008. Vol. 107. P. 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.064>.
19. House J. D., Neufeld J., Leson G. Evaluating the quality of protein from hemp seed (*Cannabis sativa* L.) products through the use of the protein digestibility-corrected amino acid score method // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2010. Vol. 58. P. 11801–11807. <https://doi.org/10.1021/jf102636b>.
20. Malomo S. A., Aluko R. E. A comparative study of the structural and functional properties of isolated hemp seed (*Cannabis sativa* L.) albumin and globulin fractions // Food Hydrocolloids. 2015. Vol. 43. P. 743–752. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.001>.
21. Teh S. S., Bekhit A. E. D. A., Carne A., Birch J. Antioxidant and ACE-inhibitory activities of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysates produced by the proteases AFP, HT, pro-G, actinidin and zingibain // Food Chemistry. 2016. Vol. 203. P. 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.057>.
22. Girgih A. T., Udenigwe C. C., Aluko R. E. Reverse-phase HPLC separation of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysate produced peptide fractions with enhanced antioxidant capacity // Plant

Foods for Human Nutrition. 2013. Vol. 68. P. 39–46. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0340-6>.

23. Han C., Yang P. Studies on the molecular mechanisms of seed germination // *Proteomics*. 2015. Vol. 15, no. 10. P. 1671–1679. <https://doi.org/10.1002/pmc201400375>.

24. Самофалова Л. А., Симоненкова А. П., Сафронова О. В. Исследование структурообразования в экстрактах из прорастающих масличных семян по изменению функциональных свойств липидного комплекса // *Вестник технологического университета*. 2017. Т. 20. N 4. С. 120–122.

25. Казёнова Н. К., Шнейдер Д. В., Казёнов И. В. Изменение химического состава зерновых про-

дуктов при проращивании // *Хлебопродукты*. 2013. N 10. С. 55–57.

26. Velleneuve S., Power K. A., Guévremont E., Mondor M., Tsao R., Wanasundara J. P. D., et al. Effect of a short-time germination process on the nutrient composition, microbial counts and bread-making potential of whole flaxseed // *Journal of Food Processing and Preservation*. 2014. Vol. 39, no. 6. P. 1574–1586. <http://doi.org/10.1111/jfpp.12385>.

27. Дьяков А. Б. Физиология и экология льна: монография. Краснодар: Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур им. В. С. Пустовойта, 2006. 214 с.

REFERENCES

1. Schultz C. J., Lim W. L., Khor S. F., Neumann K. A., Schulz J. M., Ansari O., et al. Consumer and health-related traits of seed from selected commercial and breeding lines of industrial hemp *Cannabis sativa* L. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2020;2:100025. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2020.100025>.

2. Fike J. Industrial hemp: renewed opportunities for an ancient crop. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2016;35(5-6):406–424. <https://doi.org/10.1080/07352689.2016.1257842>.

3. Irakli M., Tsaliki E., Kalivas A., Kleisaris F., Sarrou E., Cook C. M. Effect of genotype and growing year on the nutritional, phytochemical, and antioxidant properties of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds. *Antioxidants*. 2019;8:491. <https://doi.org/10.3390/antiox8100491>.

4. Vonapartis E., Aubin M.-P., Seguin P., Mustafa A. F., Charron J.-B. Seed composition of ten industrial hemp cultivars approved for production in Canada. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2015;39:8–12. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.11.004>.

5. Lan Y., Zha F., Peckrul A., Hanson B., Johnson B., Rao J., et al. Genotype x environmental effects on yielding ability and seed chemical composition of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) varieties grown in North Dakota, USA. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2019;96:1417–1425. <https://doi.org/10.1002/aocs.12291>.

6. Shelenga T. V., Grigor'ev S. V., Baturin V. S., Sarana Yu. V. Biochemical research of cannabis accessions collected in various regions of Russia. *Agrarnaya Rossiya*. 2011;(2):6–9. (In Russian).

7. Frassinetti S., Moccia E., Caltavuturo L., Gabriele M., Longo V., Bellani L., et al. Nutraceutical potential of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds and sprouts. *Food Chemistry*. 2018;262:56–66. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.078>.

8. Leonard W., Zhang P., Ying D., Fang Z. Hempseed in food industry: nutritional value, health benefits, and industrial applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2020;19(1):282–308. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12517>.

9. Cerino P., Buonerba C., Cannazza G., D'Auria J., Ottoni E., Fulgione A., et al. A review of hemp as food and nutritional supplement. *Cannabis and Cannabinoid Research*. 2021;6(1):19–27. <https://doi.org/10.1089/can.2020.0001>.

10. Barčauskaitė K., Žydelis R., Ruzgas R., Bakšinskaitė A., Tilvikienė V. The seeds of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) a source of minerals and biologically active compounds. *Journal of Natural Fibers*. 2022. <https://doi.org/10.1080/15440478.2022.2084486>.

11. EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies) scientific opinion of the panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from European Commission related to labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *EFSA Journal*. 2009;8(3):1461. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1461>.

12. Vasilyev A. V., Sharanova N. E., Kulakova S. N. Nutrimentalomics – the new stage of biochemistry of nutrition. The role of nutrilitipidomic analysis. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2014;83(1):4–11. (In Russian). <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2014-00001>.

13. Farinon B., Molinari R., Costantini L., Merendino N. The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): nutritional quality and potential functionality for human health and nutrition. *Nutrients*. 2020;29(12):1935. <https://doi.org/10.3390/nu12071935>.

14. Zelenina O. N., Serkov V. A. Fat acid composition of seed oil in new varieties and hybrids of Middle Russian hemp. *Vestnik Rossiiskoi akademii sel'skokhozyaistvennykh nauk*. 2011;2:77–79. (In Russian).

15. Gushchina V. A., Smirnov A. D., Sologub N. N., Sologub I. I. Fatty acid composition of hemp seed oil during its cultivation in the forest-steppe zone of the Middle Volga region. *Agrarnyi nauchnyi zhurnal = The Agrarian Scientific Journal*. 2022;(4):4–8. (In Russian). <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2022i4pp4-8>.

16. Walker C. G., Jebb S. A., Calder P. C., Phil D. Stearidonic acid as a supplemental source of ω-3 polyunsaturated fatty acids to enhance status for improved human health. *Nutrition*. 2013;29(2):363–369. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2012.06.003>.

17. Sukhorada T. I., Proidak M. N., Semynin A. C., Gerasimova S. A., Shabelny M. M. New oil hemp variety Omegadar-1. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tekhnicheskii byulleten' Vserossiiskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur*. 2009;(1):147–150. (In Russian).

18. Wang X.-S., Tang C.-H., Yang X.-Q.,

Gao W.-R. Characterization, amino acid composition and in vitro digestibility of hemp (*Cannabis sativa* L.) proteins. *Food Chemistry*. 2008;107:11-18. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.064>.

19. House J. D., Neufeld J., Leson G. Evaluating the quality of protein from hemp seed (*Cannabis sativa* L.) products through the use of the protein digestibility-corrected amino acid score method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010;58:11801-11807. <https://doi.org/10.1021/jf102636b>.

20. Malomo S. A., Aluko R. E. A comparative study of the structural and functional properties of isolated hemp seed (*Cannabis sativa* L.) albumin and globulin fractions. *Food Hydrocolloids*. 2015;43:743-752. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.001>.

21. Teh S. S., Bekhit A. E. D. A., Carne A., Birch J. Antioxidant and ACE-inhibitory activities of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysates produced by the proteases AFP, HT, pro-G, actinidin and zingibain. *Food Chemistry*. 2016;203:199-206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.057>.

22. Girgih A. T., Udenigwe C. C., Aluko R. E. Reverse-phase HPLC separation of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysate produced peptide fractions with enhanced antioxidant capacity. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2013;68:39-46. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0340-6>.

23. Han C., Yang P. Studies on the molecular mechanisms of seed germination. *Proteomics*. 2015;15(10):1671-1679. <https://doi.org/10.1002/pmc201400375>.

24. Samofalova L. A., Simonenkova A. P., Safronova O. V. Study of structure formation in extracts from germinating oilseeds according to the functional properties of the lipid complex. *Vestnik tekhnologicheskogo universiteta*. 2017;20(4):120-122. (In Russian).

25. Kazennova N. K., Shneider D. V., Kazennov I. V. Changes in the chemical composition of grain products during sprouting. *Khleboprodukty*. 2013;(10):55-57. (In Russian).

26. Velleneuve S., Power K. A., Guévremont E., Mondor M., Tsao R., Wanasundara J. P. D., et al. Effect of a short-time germination process on the nutrient composition, microbial counts and bread-making potential of whole flaxseed. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2014;39(6):1574-1586. <http://doi.org/10.1111/jfpp.12385>.

27. Dyakov A. B. *The physiology and ecology of flax: monograph*. Krasnodar: Vserossiiskii nauchno-issledovatel'skii institut maslichnykh kul'tur im. V. S. Pustovoita; 2006, 214 p. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

И. Э. Миневич,

д.т.н., ведущий научный сотрудник,
Федеральный научный центр лубяных культур,
170041, г. Тверь, Комсомольский пр-т, 17/56,
Российская Федерация,
irina_minevich@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8558-4257>

А. П. Нечипоренко,

д.х.н., профессор,
Национальный исследовательский университет
информационных технологий, механики
и оптики,
197101, г. Санкт-Петербург,
Кронверкский пр-т, 49, Российская Федерация,
allanech2512@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8609-9950?lang=en>

А. А. Гончарова,

младший научный сотрудник,
Федеральный научный центр лубяных культур,
170041, г. Тверь, Комсомольский пр-т, 17/56,
Российская Федерация,
a.goncharova@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5977-5669>

В. И. Ущাপовский,

младший научный сотрудник,
Федеральный научный центр лубяных культур,
170041, г. Тверь, Комсомольский пр-т, 17/56,
Российская Федерация,
v.uschapovsky@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1620-3323>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Irina E. Minevich,

Dr. Sci. (Engineering), Leading Researcher,
Federal Scientific Center for Fiber Crops,
17/56, Komsomolskii Ave., Tver, 170041,
Russian Federation,
irina_minevich@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8558-4257>

Alla P. Nechiporenko,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
National Research University of Information
Technologies, Mechanics and Optics,
49, Kronverkskii Ave., St. Petersburg, 197101,
Russian Federation,
allanech2512@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8609-9950?lang=en>

Agatha A. Goncharova,

Junior Researcher,
Federal Scientific Center for Fiber Crops,
17/56, Komsomolskii Ave., Tver, 170041,
Russian Federation,
a.goncharova@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5977-5669>

Valentin I. Uschapovsky,

Junior Researcher,
Federal Scientific Center for Fiber Crops,
17/56, Komsomolskii Ave., Tver, 170041,
Russian Federation,
v.uschapovsky@fncl.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1620-3323>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 12.09.2022.
Одобрена после рецензирования 23.10.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.

Information about the article

The article was submitted 12.09.2022.
Approved after reviewing 23.10.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.



Распространение азоттрансформирующих бактерий в искусственном водоеме с высшими водными растениями

Нгуен Ван Тхань Нам*, Тхи Мо Лыонг *, Наталья Юрьевна Юдина**,
Ольга Николаевна Понаморева**, Сергей Валерьевич Алферов**,
Чан Нгок Линь Чи*, Нгуен Тхи Зунг*, Фунг Тхи Ми Зуен***, Во Тхань Нгиа***

*Южное отделение Совместного Российско-Вьетнамского Тропического
научно-исследовательского и технологического центра, г. Хошимин, Вьетнам

**Тульский государственный университет, г. Тула, Российская Федерация

***Аграрно-лесной университет, г. Хошимин, Вьетнам

Автор, ответственный за переписку: Юдина Наталья Юрьевна, TSUnewIT@gmail.com

Аннотация. Данная статья посвящена исследованию распространения азоттрансформирующих бактерий в искусственном водоеме с высшими водными растениями. Сконструированы искусственные водоемы (пруды) с высшими водными растениями тростника обыкновенного (*Phragmites australis*) и рогоза (*Typha*) для очистки свиноводческих сточных вод. В пруду с *Phragmites australis* выделено 7 штаммов аммонийоокисляющих и 14 денитрифицирующих бактерий, а в пруду с *Typha* – 6 штаммов аммонийоокисляющих и 19 денитрифицирующих бактерий. В результате сравнительного анализа численности бактерий в разных точках отбора образцов выявлено их снижение вдоль искусственного водоема. Больше всего аммонийоокисляющих штаммов бактерий было идентифицировано в образцах, отобранных в поверхностном слое пруда, в то время как денитрифицирующие бактерии доминировали в донном слое. Выделенные микроорганизмы установлены методом определения последовательности нуклеотидов 16 SrRNA, они относятся к родам *Pantoea*, *Enterobacter*, *Bacillus*. Показано, что искусственный водоем с высшими водными растениями обладает разнообразной микробиотой, состав которой сильно зависит от источника сточных вод и не зависит от видов посаженных растений. Проведено определение способности трансформации аммиака и денитрификации выделенными штаммами бактерий. Наибольшая эффективность превращения аммиака (до 56%) показана для бактерий *Enterobacter cloacae*, выделенных из поверхностного слоя пруда. Денитрифицирующие бактерии, отобранные из донного слоя, способны снижать содержание нитрата с 20 до 10 мг/л за 72 ч. Полученные результаты подтверждают роль бактерий в очистке сточных вод от азотсодержащих загрязняющих веществ, а средняя эффективность удаления неорганических соединений азота составляет 50%.

Ключевые слова: искусственный водоем, водные высшие растения, микробиота сточных вод, денитрифицирующие бактерии, очистка животноводческих сточных вод

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Народного комитета провинции Биньфьюк (Вьетнам) по распоряжению № 2999/QĐ-UBND от 28 декабря 2018 г.

Для цитирования: Нам Н. В. Т., Лыонг Т. М., Юдина Н. Ю., Понаморева О. Н., Алферов С. В., Чи Ч. Н. Л., Зунг Н. Т., Зуен Ф. Т. М., Нгиа В. Т. Распространение азоттрансформирующих бактерий в искусственном водоеме с высшими водными растениями // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 589–598. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-589-598>.

PHYSICO-CHEMICAL BIOLOGY

Original article

Distribution of nitrogen-transforming bacteria in an artificial reservoir populated with aquatic higher plants

Nguyen V. T. Nam*, Mo T. Luong *, Natalia Yu. Yudina**, Olga N. Ponamoreva**,
Sergey V. Alferov**, Tran N. L. Chi*, Nguyen T. Dung*, Phung T. M. Duyen***,
Vo T. Nghia***

*Southern Branch of Joint Vietnam-Russia Tropical Science and Technology Research Center,
Ho Chi Minh City, Vietnam

**Tula State University, Tula, Russian Federation

***Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

Corresponding author: Natalia Yu. Yudina, TSUnewIT@gmail.com

Abstract. This article examines the distribution of nitrogen-transforming bacteria in an artificial reservoir (pond) populated with aquatic higher plants of common reed (*Phragmites australis*) and cattail (*Typha*) for treating swine wastewater. In the pond occupied by *Phragmites australis*, 7 strains of ammonium oxidising and 14 denitrifying bacteria were identified, while, in the pond occupied by *Typha*, 6 strains of ammonium oxidising and 19 denitrifying bacteria were distinguished. A comparative analysis of bacterial count at various sampling points revealed their decrease along the artificial pond. Most of the bacteria strains oxidising ammonium were identified in the samples collected from the surface layer of the pond, while denitrifying bacteria dominated the bottom layer. The isolated microorganisms identified by 16S rRNA sequencing belonged to the genus *Pantoea*, *Enterobacter* and *Bacillus*. An artificial pond having aquatic higher plants is characterised by a diverse microbiota, whose composition strongly depends on the wastewater source rather than on the cultivated plant species. The ammonia transformation and denitrification capacity of isolated bacterial strains was determined. The highest conversion efficiency of ammonia (up to 56%) was observed for *Enterobacter cloacae* bacteria isolated from the surface layer of the pond. Denitrifying bacteria sampled from the bottom layer allowed for the reduction in nitrate content from 20 to 10 mg/L in 72 h. The obtained results confirm the role of bacteria in the treatment of wastewater against nitrogen-containing pollutants, with the average efficiency of removal of inorganic nitrogen compounds being 50%.

Keywords: artificial reservoir, aquatic higher plants, wastewater microbiota, denitrifying bacteria, livestock wastewater treatment

Funding. The study was funded by the People's Committee of BinhPhuoc province (Viet Nam) (Decision no. 2999/QĐ-UBND, 28 December, 2018).

For citation: Nam N. V. T., Luong T. M., Yudina N. Yu., Ponamoreva O. N., Alferov S. V., Chi T. N. L., Dung N. T., Duyen P. T. M., Nghia V. T. Distribution of nitrogen-transforming bacteria in an artificial reservoir populated with aquatic higher plants. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):589-598. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-589-598>.

ВВЕДЕНИЕ

Почвенно-болотные системы с высшими водными растениями, созданные с использованием современной экологической технологии «constructed wetlands» (другое название – искусственный водоем с высшими водными растениями), могут использоваться для очистки сточных вод и являются одним из самых перспективных типов очистных сооружений ввиду низких затрат на капитальное строительство, простоты эксплуатации, высокой эффективности обезвреживания загрязненных вод и экологической безопасности. Constructed wetlands преимущественно применяются для очистки сточных вод на малых животноводческих фермах, в которых не требуется проводить сложное эксплуатационное и техническое обслуживание [1–3]. Многочисленные международные исследования свидетельствуют об успешном применении систем «constructed wetlands» для очистки сточных вод различного происхождения, в том числе для животноводства, где одним из главных загрязнителей выступают различные соединения азота [4–6]. В зависимости от гидравлической проектной линии системы почвенно-болотной очистки сточных вод делятся на два типа: поверхностный и донный (или подповерхностный). В прудах с донным типом может быть организовано горизонтальное и вертикальное движение воды. Для увеличения эффективности удаления аммиака и азота в 1990–2000 годах часто применяли системы почвенно-болотной очистки сточных вод смешанных типов, например,

сопряженные системы с горизонтальным и вертикальным потоками или поверхностным и донным потоками для увеличения эффективности очистки с учетом преимущества каждого типа систем [7].

Высшие растения в почвенно-болотных системах обеспечивают одновременное протекание физических, химических и многообразных биологических процессов утилизации загрязняющих веществ, что приводит к интенсификации процессов очистки сточных вод. Однако основную роль в процессах очистки сточных вод играют микроорганизмы, которые организованы в разнообразные микробные сообщества в зависимости от типа сточных вод и загрязняющих веществ. Был проведен ряд исследований, в которых показано наличие разнообразных микробных сообществ в почвенно-болотной системе очистки сточных вод. Среди них обнаружены бактерии, способные утилизировать многие органические соединения [8], антибиотики [9], азот, фосфор [10], тяжелые металлы [11]. Однако взаимосвязи между процессами, обусловленными жизнедеятельностью микроорганизмов, растений, природных сорбентов, по отношению к загрязняющим веществам в сточных водах до сих пор полностью не выявлены [12]. Серьезной проблемой является очистка сточных вод свиноводческих комплексов и ферм, т. к. эти стоки имеют высокое содержание соединений аммиака и очень низкую скорость разложения загрязняющих веществ. Для разработки эффективных систем очистки с применением технологии искусственных почвенно-болотных систем важно

знать состав микробных сообществ в зависимости от условий очистки стоков.

Целью данной работы является определение разнообразия и распределения бактерий, способствующих превращению азота в сточных водах предприятий животноводства, в почвенно-болотной системе с высшими водными растениями и горизонтальным потоком жидкости.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования является сообщество бактерий, которое участвует в процессе превращения азота в почвенно-болотной системе очистки сточных вод свиноводческого комплекса, которые предварительно подвергали обработке с использованием биогазовой установки. Почвенно-болотная система представляет собой пруд, работа которого основана на природной способности высших водных растений (тростник, рогоз) очищать воду в контакте с корневой системой растений. На корнях растений развиваются бактерии, способные переработать множество органических загрязнений. Создание в пруду горизонтального потока жидкости позволяет проводить очистку не только в корневой зоне, но и во всем объеме пруда.

Сконструированы 2 пруда размерами (длина х ширина х глубина, м) = 2,8 х 0,6 х 0,8, в которые высажены высшие водные растения: тростник обыкновенный (*Phragmites australis*) или рогоз (*Typha*) (рис. 1). С 2-х сторон пруд наполнен гравием с размером частиц 40–60 мм, высотой слоя 60 см и толщиной 40 мм, внутри – гравием 1–4 мм с толщиной слоя 600 мм, на поверхности покрыт слоем гравия размерами 10–20 мм с толщиной 100 мм. Площадь пруда составляет

1,68 м². Уровень воды в пруду сохраняется ниже поверхности примерно на 100 мм, т. е. под слоем гравия 10–20 мм.

Схема работы пруда следующая: сточная вода после биогазовой установки попадает по трубе с распределительным устройством в боковую часть пруда со слоем гравия 40–60 мм. Уровень воды в пруду контролируется переливной трубой с высотой 60 см (см. рис. 1), которая располагается в зоне сбора очищенной воды. Сточная вода первоначально очищается фильтрованием через слой гравия, а затем поступает к корням растений, растворенные и коллоидные примеси утилизируются микроорганизмами.

Время отстаивания сточных вод в пруду составляло 8 суток. Перед отбором проб для исследования изучаемая система функционировала 9 месяцев. Пробы, которые использовали для измерения показателей качества воды до очистки, отбирали в отстойнике, находящемся перед входом в пруд, а после очистки пробы отбирали в переливной трубе (см. рис. 1).

Содержание общего азота, катионов аммония (NH_4^+), нитрат-анионов определяли колориметрическим методом, индикаторами для которого служили персульфат, салицилат, хромовая кислота. Измерение проводили на колориметре DR-900 (HACH, США). Концентрацию растворенного кислорода и значений pH устанавливали с использованием прибора ExStik® DO600 и pH-метра ExStik® EC500 (Extech, США).

Отбор образцов для выделения бактерий проводили в точках, которые находились в начале, середине, конце (по длине) пруда, и в 2-х точках по его глубине – в поверхностном (5–10 см) и донном (35 см) слоях (см. рис. 1). Выделение

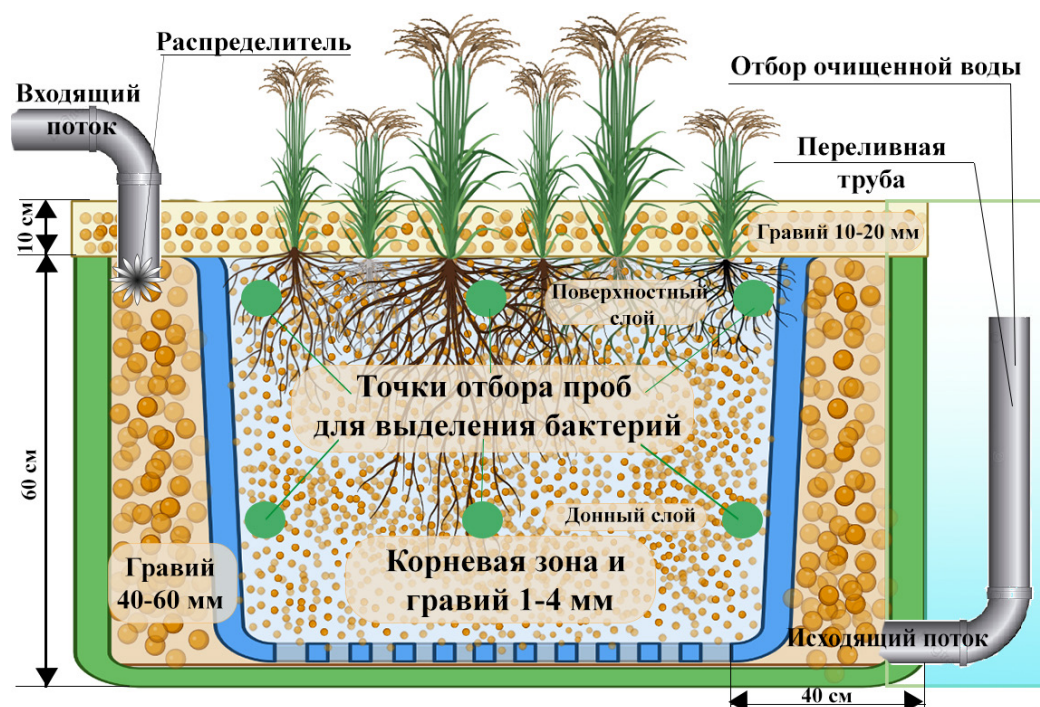


Рис. 1. Конструкция искусственного водоема с высшими водными растениями
Fig. 1. Design of an artificial reservoir with higher aquatic plants

Таблица 1. Показатели сточных вод до и после очистки
Table 1. Indicators of wastewater before and after treatment

Показатели	Вход		Выход (после биологической очистки)	
	<i>Phragmites australis</i>	<i>Typha</i>	<i>Phragmites australis</i>	<i>Typha</i>
pH	6,8–7,1	6,7–7,4	7,0–7,3	7,0–7,4
Растворенный кислород, мг/л	2,3–3,6	2,9–3,9	1,8–2,5	1,7–2,5
N, мг/л	218–347	223–352	118–149	116–154
NH ₄ ⁺ , мг/л	95–138	92–126	64–97	60–95
NO ₃ ⁻ , мг/л	74–98	56–93	9,5–22,2	8,2–24,3

бактерий выполняли по методике, описанной в работах [13, 14], для этого на 1-м этапе проводили обогащение микроорганизмов высевом на питательный агар следующего состава, г/л: пептон – 5; дрожжевой экстракт – 1,5; мясной экстракт – 1,5; хлорид натрия – 5; агар-агар – 15. Выделенные бактерии идентифицировали методом определения последовательности нуклеотидов 16SrRNA.

Отбор аммонийоокисляющих бактерий проводили на питательной среде Виноградского следующего состава, г/л: (NH₄)₂SO₄ – 2,0; K₂HPO₄ – 1,0; MgSO₄ · 7H₂O – 0,5; NaCl – 2,0; FeSO₄ – 0,4; NaHCO₃ – 0,5. Среду готовили на 0,3%-м растворе ацетата натрия (CH₃COONa) для выявления процесса гетеротрофной нитрификации.

Селекцию денитрифицирующих бактерий осуществляли на питательной среде Гильтея следующего состава, г/л: KNO₃ – 2,0; аспарагин – 1,0; натрий лимоннокислый – 2,5; KH₂P0₄ – 2; CaCl₂ – 0,2; MgSO₄ · 7H₂O – 2; FeCl₃ – следы. Компоненты среды растворяли в 1 л дистиллированной воды, доводили pH до 7,5, добавляли 20 г агара и автоклавировали при температуре 121 °C в течение 20 мин.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Применение искусственного водоема с высшими водными растениями для эффективной очистки сточных вод. В течение 2-х месяцев проводили отбор 10 образцов воды. Показатели сточных вод, поступающих в искусственный водоем до и после биологической очистки, представлены в табл. 1.

Незначительное снижение уровня растворенного кислорода после биологической очистки связано с длительным нахождением сточных вод в пруду (8 суток) и, как следствие, с расходом кислорода на биохимическое окисление органических веществ. Кроме того, отбор проб после очистки происходит в переливной трубе, где вода не взаимодействует с атмосферным воздухом, в связи с чем концентрация растворенного кислорода также снижается.

Эффективность очистки воды от азотсодержащих органических соединений в пруду с *Phragmites australis* и *Typha* составляет в среднем 52 и 50% соответственно.

Распространение азоттрансформирующих бактерий в пруду. В результате сравнительного анализа численности бактерий в разных точках отбора образцов выявлено их снижение вдоль

или по длине искусственного водоема. Это можно объяснить убылью содержания загрязняющих веществ в сточной воде по направлению потока от начала и до конца системы. Полученный нами результат соответствует данным, представленным в публикациях [14, 15] по изучению разнообразия бактерий, находящихся в искусственном водоеме с растениями семейства *Canna indica*.

В искусственных водоемах с использованием высших растений, корневая система которых расположена в поверхностном слое, численность микроорганизмов выше (т. к. микроорганизмы иммобилизованы на корнях), чем в нижних слоях пруда (табл. 2).

Таблица 2. Численность бактерий в разных точках отбора образцов (КОЕ/мл)

Table 2. Number of bacteria at different sampling points (cfu/ml)

Место сбора образцов	Верхний слой		Донный слой	
	<i>Phragmites australis</i>	<i>Typha</i>	<i>Phragmites australis</i>	<i>Typha</i>
Начало пруда	2,6 × 10 ⁹	2,5 × 10 ⁹	1,8 × 10 ⁹	2,1 × 10 ⁹
Середина пруда	2,7 × 10 ⁹	2,3 × 10 ⁹	1,7 × 10 ⁹	1,6 × 10 ⁹
Конец пруда	1,9 × 10 ⁹	1,6 × 10 ⁹	1,0 × 10 ⁹	1,1 × 10 ⁹

В результате культивирования на среде Виноградского выделили 7 и 6 штаммов аммонийоокисляющих бактерий в пробах, отобранных в пруду с *Phragmites australis* и *Typha* соответственно (табл. 3). Видно, что больше всего штаммов бактерий было идентифицировано в образцах, отобранных в поверхностном слое пруда, в том время как в образце из донного слоя пруда с *Phragmites australis* был идентифицирован только один штамм бактерий. Данные факты могут быть объяснены тем, что в системах очистки сточных вод с горизонтальным потоком жидкости кислород поступает к корневой системе растений и концентрация растворенного кислорода в поверхностном слое выше, чем в донном слое, что обуславливает размножение аммонийоокисляющих аэробных бактерий.

Выделенные штаммы бактерий в обоих прудах имеют сходную морфологию колоний и клеток.

Таблица 3. Распространение аммонийоокисляющих бактерий по глубине биологического пруда
Table 3. Distribution of ammonium-oxidizing bacteria along the depth of the biological pond

Место сбора образцов		Количество штаммов аммонийоокисляющих бактерий (АОБ)	Наименование штамма (изолята)
Пруд с <i>Phragmites australis</i>	Поверхностный слой	6	АОБ1, АОВ2, АОВ3, АОВ4Д, АОВ5, АОВ6
	Донный слой	1	АОБ4N
Пруд с <i>Typha</i>	Поверхностный слой	6	АОБ1, АОВ2, АОВ3, АОВ4Д, АОВ5, АОВ6
	Донный слой	0	–

Таблица 4. Распространение денитрифицирующих бактерий по глубине пруда
Table 4. Distribution of denitrifying bacteria along the depth of the pond

Место сбора образцов		Количество штаммов денитрифицирующих бактерий	Наименование штамма (изолята)
Пруд с <i>Phragmites australis</i>	Поверхностный слой	4	NT1, NT5, Nx, N7
	Донный слой	11	NT1, NT2, NT3, NT6, NT11, NT12, N1a, N1b, N8a, Nx, N7
Пруд с <i>Typha</i>	Поверхностный слой	5	NT1, NT5, NT8, CC4, N8c
	Донный слой	14	NT1, NT2, NT3, NT6, NT11, NT12, N1a, N1b, N8a, N8b, N8c, CC4, Nx, N7

Авторы статей [8, 16, 17] считают, что разнообразие микроорганизмов отличается в зависимости от источника сточных вод, почвы и сезона отбора проб.

При культивировании денитрифицирующих бактерий на среде Гильея выделили 34 изолята, в том числе 14 изолятов в пруду с *Phragmites australis* и 19 изолятов в пруду с *Typha* (табл. 4). Важно отметить, что денитрифицирующие бактерии доминировали в донном слое, а не в поверхностном слое, как аммонийоокисляющие бактерии. Это согласуется с литературными данными о том, что денитрифицирующие бактерии представлены микроаэрофильными и факультативно анаэробными формами и обитают в анаэробной среде или среде без доступа кислорода.

Для идентификации изолированных микроорганизмов было отобрано 5 изолятов бактерий (2 штамма аммонийоокисляющих бактерий и 3 штамма денитрифицирующих бактерий). При сравнении последовательности с идентификационной базой данных GenBank изолят АОВ2 имеет 99%-е сходство со штаммом *Pantoea agglomerans* NPKC1226, АОВ3 – со штаммом *Enterobacter cloacae* RCB980, NT3 – со штаммом *Bacillus cereus* GT48, NT6 – с *Bacillus cereus*, а NT11 – с *Enterobacter kobei* NPKC1244. Морфология колоний и клеток представлена в табл. 5.

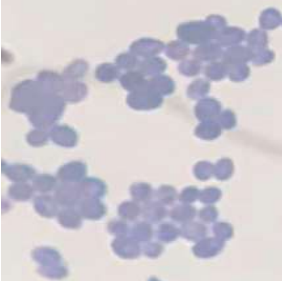
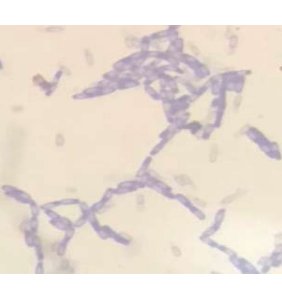
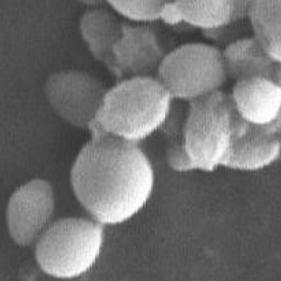
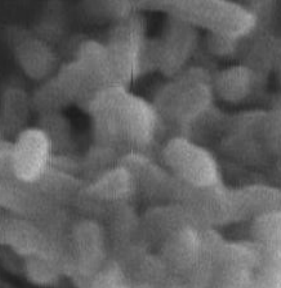
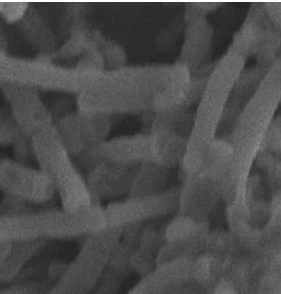
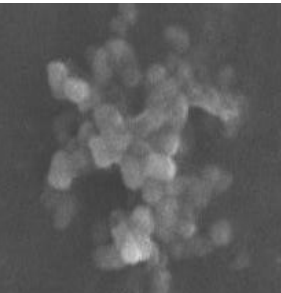
логия колоний и клеток представлена в табл. 5.

В результате идентификации выявили 2 штамма бактерии (АОБ2, АОВ3), которые относятся к гетеротрофным бактериям и участвуют в аммонийоокисляющих процессах. Традиционно в энергодающих процессах окисления аммония (нитрификации) участвуют автотрофные микроорганизмы, однако в некоторых публикациях показано, что гетеротрофные бактерии также могут участвовать в данном процессе [18, 19].

Таким образом, штаммы бактерий, выделенные в данной работе, относятся к виду *Bacillus*, *Enterobacter* и *Pantoea*, что согласуется с результатами других авторов, изучавших микробиоту кишечника свиньи [20–22]. Это отчасти объясняет зависимость разнообразия микробных сообществ от источника сточных вод в почвенно-болотной системе для очистки сточных вод животноводческих ферм.

Определение способности превращения аммиака выделенными штаммами бактерий. Эффективность превращения аммиака оценивали в ходе культивирования бактерий на жидкой среде Виноградского с добавлением ацетата натрия в качестве источника органического углерода. После внесения инокулята с численностью бактерий 1×10^8 КОЕ/мл в питательную среду наблюдали

Таблица 5. Морфология колоний и клеток идентифицированных бактерий
 Table 5. Morphology of colonies and cells of identified bacteria

Штамм	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Enterobacter kobei</i>
Морфология колоний					
Морфология клеток (световой микроскоп)					
Морфология клеток (электронный микроскоп)					

изменение концентрации аммиака через 2 и 4 суток (рис. 2).

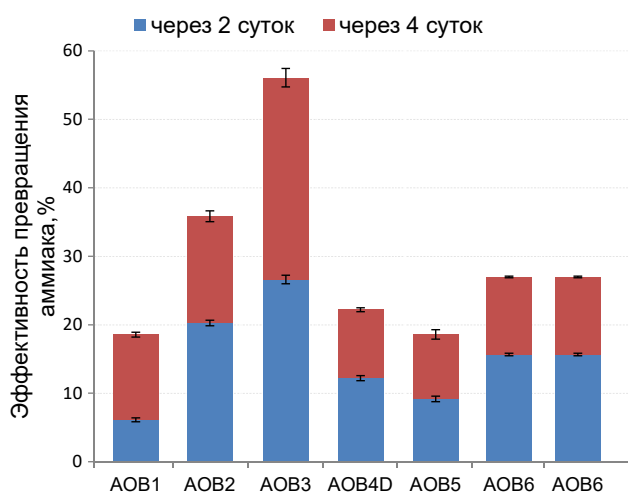


Рис. 2. Эффективность превращения аммиака выделенными бактериями

Fig. 2. Efficiency of ammonia conversion by isolated bacteria

Штамм AOB3 через 4 суток способен к превращению до 56% аммиака, добавленного в культуральную среду; через 2 суток эффективность превращения достигала 30%. В то же время бактерии штамма AOB2 потребляли 20 и 36% аммиака через 2 и 4 суток соответственно. Оставшиеся 4 штамма превращали до 13% аммиака на 2-е сутки. Можно отметить, что штаммы бактерий, которые обладают способностью потреблять аммиак, были выделены с верхнего слоя искусственного водоема.

Оценка эффективности денитрификации выделенными бактериями. Эксперимент проводили со штаммами NT2, NT3, NT6, NT11 путем определения содержания нитрата и численности бактерий через 24, 48 и 72 ч.

В ходе культивирования бактерий в среде Гильтея через 24 ч наблюдалось увеличение численности бактерий и снижение содержания нитрата в культуральной среде с 20 до 10 мг/л. Увеличение численности бактерий продолжалось до 36 ч, соответствующих времени наступления стационарной фазы роста; после 48 ч культивирования наблюдалось уменьшение численности бактерий в фазе отмирания. После 24 ч культивирования было отмечено постепенное снижение концентрации нитратов с достижением их минимального содержания через 72 ч (рис. 3).

Несмотря на то, что штаммы бактерий (способные с высокой эффективностью превращать нитрат

в молекулярный азот) преимущественно обитают в условиях лимита по кислороду, и в слое с аэрацией также были выделены денитрифицирующие бактерии. Полученный результат согласуется с данными других авторов [23], которые показали, что некоторые штаммы денитрифицирующих бактерий могут развиваться и превращать нитраты в азот в микроаэрофильных условиях.

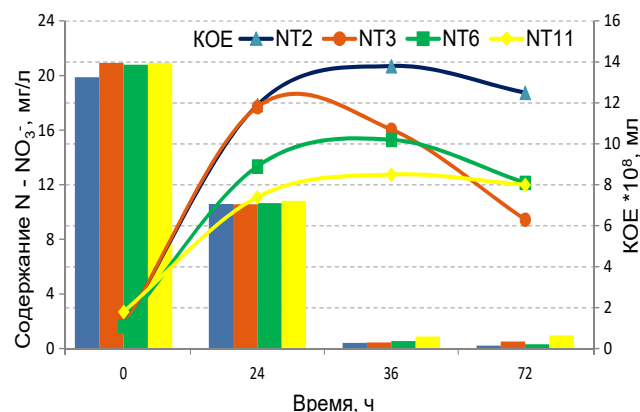


Рис. 3. Эффективность денитрификации wybranными бактериями

Fig. 3. Efficiency of denitrification by selected bacteria

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что искусственный водоем с высшими водными растениями обладает разнообразной микробиотой, состав которой сильно зависит от источника сточных вод и не зависит от видов посаженных растений. Распределение и численность микроорганизмов, участвующих в процессах превращения азота, соответствуют условиям окружающей среды, а также выбранной конструкции почвенно-болотной системы с горизонтальным потоком. В результате лабораторных экспериментов показано, что штаммы бактерий, выделенных из искусственного водоема, обладают высокой способностью к денитрификации. Наибольшая эффективность трансформации аммиака (до 56%) показана для бактерий *Enterobacter cloacae*, выделенных из поверхностного слоя пруда. Полученные нами результаты подтверждают роль бактерий в очистке азотсодержащих примесей воды в гидротехнической системе.

Таким образом, микробиота денитрифицирующих бактерий является важным компонентом и эффективно участвует в процессе превращений соединений азота в искусственном водоеме с горизонтальным потоком жидкости.

REFERENCES

1. Vymazal J. The historical development of constructed wetlands for wastewater treatment. *Land*. 2022;11(2):174. <https://doi.org/10.3390/land11020174>.
2. Vymazal J. Constructed wetlands for wastewater treatment: five decades of experience. *Environmental Science & Technology*. 2011;45(1):61-69. <https://doi.org/10.1021/es101403q>.
3. Kadlec R., Wallace S. *Treatment wetlands*. Boca Raton: CRC Press; 2008. 1016 p. <https://doi.org/10.1201/9781420012514>.
4. Torrens A., Folch M., Salgot M. Design and performance of an innovative hybrid constructed wetland for sustainable pig slurry treatment in small farms. *Frontiers in Environmental Science*. 2021;8:577186. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.577186>.
5. Dias S., Mucha A. P., Crespo R. D., Rodrigues P.,

Almeida C. M. R. Livestock wastewater treatment in constructed wetlands for agriculture reuse. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020;17(22):1-21. <https://doi.org/10.3390/ijerph17228592>.

6. Klomjek P. Swine wastewater treatment using vertical subsurface flow constructed wetland planted with Napier grass. *Sustainable Environment Research*. 2016;26(5):217-223. <https://doi.org/10.1016/j.serj.2016.03.001>.

7. Bresciani E., Kang P. K., Lee S. Theoretical analysis of groundwater flow patterns near stagnation points. *Water Resources Research*. 2019;55(2):1624-1650. <https://doi.org/10.1029/2018WR023508>.

8. Zhang Y., Carvalho P. N., Lv T., Arias C., Brix H., Chen Z. Microbial density and diversity in constructed wetland systems and the relation to pollutant removal efficiency. *Water Science and Technology*. 2016;73(3):679-686. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.542>.

9. Vassallo A., Miceli E., Fagorzi C., Castonovo L. M., Del Duca S., Chioccioli S., et al. Temporal evolution of bacterial endophytes associated to the roots of *Phragmites australis* exploited in phytodepuration of wastewater. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:1652. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01652>.

10. Zhao Y., Song X., Cao X., Wang Y., Zhao Z., Si Z., et al. Modified solid carbon sources with nitrate adsorption capability combined with nZVI improve the denitrification performance of constructed wetlands. *Bioresour Technol*. 2019;294:122189. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122189>.

11. Zhang Y., Li Y., Wang J., Wang X., Liu Y., Wang S., et al. Interactions of chlorpyrifos degradation and Cd removal in iron-carbon-based constructed wetlands for treating synthetic farmland wastewater. *Journal of Environmental Management*. 2021;299:113559. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113559>.

12. Rajan R. J., Sudarsan J. S., Nithiyantham S. Microbial population dynamics in constructed wetlands: review of recent advancements for wastewater treatment. *Environmental Engineering Research*. 2018;24(2):181-190. <https://doi.org/10.4491/eer.2018.127>.

13. Calheiros C. S. C., Teixeira A., Pires C., Franco A. R., Duque A. F., Crispim L. F. C., et al. Bacterial community dynamics in horizontal flow constructed wetlands with different plants for high salinity industrial wastewater polishing. *Water Research*. 2010;44(17):5032-5038. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.017>.

14. Calheiros C. S. C., Pereira S. I. A., Brix H., Ran-

gel A. O. S. S., Castro P. M. L. Assessment of culturable bacterial endophytic communities colonizing *Canna flaccida* inhabiting a wastewater treatment constructed wetland. *Ecological Engineering*. 2017;98:418-426. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.04.002>.

15. Ibekwe A. M., Ma J., Murinda S., Reddy G. B. Microbial diversity in continuous flow constructed wetland for the treatment of swine waste. *Hydrology: Current Research*. 2017;8:277. <https://doi.org/10.4172/2157-7587.1000277>.

16. Shirdashtzadeh M., Chua L. H. C., Brau L. Microbial communities and nitrogen transformation in constructed wetlands treating storm water runoff. *Frontiers in Water*. 2022;3:751830. <https://doi.org/10.3389/frwa.2021.751830>.

17. Baptista J. D. C., Davenport R. J., Donnelly T., Curtis T. P. The microbial diversity of laboratory-scale wetlands appears to be randomly assembled. *Water Research*. 2008;42(12):3182-3190. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.03.013>.

18. Duan S., Zhang Y., Zheng S. Heterotrophic nitrifying bacteria in wastewater biological nitrogen removal systems: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2022;52(13):2302-2338. <https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1877976>.

19. Yang X.-P., Wang S.-M., Zhang D.-W., Zhou L.-X. Isolation and nitrogen removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying-denitrifying bacterium, *Bacillus subtilis* A1. *Bioresour Technol*. 2011;102(2):854-862. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.007>.

20. Vidal G., de Los Reyes C. P., Sáez O., Stefanakis A. I. The performance of constructed wetlands for treating swine wastewater under different operating conditions. *Constructed Wetlands for Industrial Wastewater Treatment*. 2018;203-221.

21. Wylensek D., Hitch T. C., Riedel T., Afrizal A., Kumar N., Wortmann E., et al. A collection of bacterial isolates from the pig intestine reveals functional and taxonomic diversity. *Nature Communications*. 2020;11(1):1-26. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19929-w>.

22. Isaacson R., Kim H. B. The intestinal microbiome of the pig. *Animal Health Research Reviews*. 2012;13(1):100-109. <https://doi.org/10.1017/S1466252312000084>.

23. Ha H. P., Huy N. Q., Yen H. T. Investigation of suitable conditions for the growth and producing biofilm of denitrifying bacteria. *Vietnam Journal of Biotechnology*. 2016;14(1):191-196. <https://doi.org/10.15625/1811-4989/14/1/9309>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Н. В. Т. Нам,
магистр, научный сотрудник,
Южное отделение Совместного
Российско-Вьетнамского Тропического
научно-исследовательского
и технологического центра,
740300, г. Хошимин, ул. Третьего Февраля,
район 10, Вьетнам,
xungcavn@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0091-5369>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nguyen V. T. Nam,
Master Sci., Researcher,
Southern Branch of Joint Vietnam-Russia Tropical
Science and Technology Research Center,
3, 3 Thang 2 St., 740300, Ho Chi Minh City,
Distr. 10, Vietnam,
xungcavn@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0091-5369>

Т. М. Лыонг,
к.х.н., заведующий лабораторией,
Южное отделение Совместного
Российско-Вьетнамского Тропического
научно-исследовательского
и технологического центра,
740300, г. Хошимин, ул. Третьего Февраля,
район 10, Вьетнам,
luongmo@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6035-5933>

Н. Ю. Юдина,
к.х.н., доцент,
старший научный сотрудник,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр-т Ленина, 92,
Российская Федерация,
TSUnewIT@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4054-9642>

О. Н. Понаморева,
д.х.н., заведующий кафедрой биотехнологии,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр-т Ленина, 92,
Российская Федерация
olgaponamoreva@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3481-2552>

С. В. Алферов,
к.х.н., заведующий лабораторией,
Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр-т Ленина, 92,
Российская Федерация,
s.v.alferov@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5217-7815>

Ч. Н. Л. Чи,
инженер, научный сотрудник,
Южное отделение Совместного
Российско-Вьетнамского Тропического
научно-исследовательского
и технологического центра,
740300, г. Хошимин, ул. Третьего Февраля,
район 10, Вьетнам,
tryphena6896@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-1641-9418>

Н. Т. Зунг,
студент, лаборант,
Южное отделение Совместного
Российско-Вьетнамского Тропического
научно-исследовательского
и технологического центра,
740300, г. Хошимин, ул. Третьего Февраля,
район 10, Вьетнам,
dungnguyen14791@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-5567-9725>

Ф. Т. М. Зуен,
студент,
Аграрно-лесной университет,

Mo T. Luong,
Cand. Sci. (Chemistry), Head of the Laboratory,
Southern Branch of Joint Vietnam-Russia Tropical
Science and Technology Research Center,
3, 3 Thang 2 St., 740300, Ho Chi Minh City,
Distr. 10, Vietnam,
luongmo@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6035-5933>

Natalia Yu. Yudina,
Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
TSUnewIT@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4054-9642>

Olga N. Ponamoreva,
Dr. Sci. (Chemistry),
Head of the Department of Biotechnology,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
olgaponamoreva@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3481-2552>

Sergey V. Alferov,
Cand. Sci. (Chemistry), Head of the Laboratory,
Tula State University,
92, Lenin Ave., Tula, 300012,
Russian Federation,
s.v.alferov@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5217-7815>

Tran N. L. Chi,
Engineer, Researcher,
Southern Branch of Joint Vietnam-Russia Tropical
Science and Technology Research Center,
3, 3 Thang 2 St., 740300, Ho Chi Minh City,
Distr. 10, Vietnam,
tryphena6896@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-1641-9418>

Nguyen T. Dung,
Student, Laboratory Assistant,
Southern Branch of Joint Vietnam-Russia Tropical
Science and Technology Research Center,
3, 3 Thang 2 St., 740300, Ho Chi Minh City,
Distr. 10, Vietnam,
dungnguyen14791@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-5567-9725>

Phung T. M. Duyen,
Student,
Nong Lam University,

720400, г. Хошимин, ул. П. Линь Трунг,
квартал 6, Вьетнам,
16126039@st.hcmuaf.edu.vn
<https://orcid.org/0000-0002-7469-4004>

В. Т. Нгия,
студент,
Аграрно-лесной университет,
720400, г. Хошимин, ул. П. Линь Трунг, квартал 6,
Вьетнам,
16126110@st.hcmuaf.edu.vn
<https://orcid.org/0000-0003-2740-9853>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.*

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 18.07.2022.
Одобрена после рецензирования 05.10.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.*

KP. 6, P. Linh Trung St., 720400,
Ho Chi Minh City, Vietnam,
16126039@st.hcmuaf.edu.vn
<https://orcid.org/0000-0002-7469-4004>

Vo T. Nghia,
Student,
Nong Lam University,
KP. 6, P. Linh Trung St., 720400,
Ho Chi Minh City, Vietnam,
16126110@st.hcmuaf.edu.vn
<https://orcid.org/0000-0003-2740-9853>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests regard-
ing the publication of this article.

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

Information about the article

*The article was submitted 18.07.2022.
Approved after reviewing 05.10.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.*

Научная статья

УДК 575.224.22

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-599-604>



Биоинформатический метод определения однонуклеотидных полиморфизмов на примере гена *WIN* у *Glycine max*

Павел Дмитриевич Тимкин, Андрей Андреевич Пензин

Всероссийский научно-исследовательский институт сои,

г. Благовещенск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Тимкин Павел Дмитриевич, tpd@vniisoi.ru

Аннотация. В данной работе предлагается гипотетический метод поиска SNPs (однонуклеотидных полиморфизмов) на примере гена рибонуклеазы *WIN*. Рибонуклеаза – фермент, который участвует в реакциях защиты против грибковых инфекций у сои, а также в других реакциях по защите от биотического стресса. Принадлежность к группе РНК-аз обуславливает ее специфические свойства, а именно способность к деградации чужеродных нуклеиновых кислот. Данная способность позволяет индуцировать общий неспецифический иммунный ответ растения на вторжение антигенных структур. В современной биотехнологии стоит задача разработки молекулярных методов и подходов, которые позволят увеличить резистентные свойства культуры или ускорить процессы ее адаптации в полевых условиях. Ключом к решению этой задачи может служить использование технологий искусственного индуцирования однонуклеотидных полиморфизмов в тех участках генома, которые кодируют белки, способные принимать участие в защитных реакциях против биотического стресса. В ходе проведенного исследования нам удалось предположить 5 однонуклеотидных полиморфизмов с использованием методов биоинформационного анализа в рамках описываемой нами методики. Локализация и детекция SNPs является сложной задачей ввиду наличия изменения одного нуклеотида. Поэтому в практике биотехнологов имеется задача проведения предиктивного анализа с целью локализации потенциальной последовательности нахождения однонуклеотидного полиморфизма. После выяснения гипотетического расположения SNPs появляется возможность дальнейшего их детектирования с использованием сложных молекулярных методов, таких как ПЦР в реальном времени или локальное секвенирование. Данная технология даст возможность исследователям получить мощный инструмент для проведения селекционных работ с целью выведения сортов сои с заранее заданными свойствами. Подобные теоретические и предсказательные модели позволят более оперативно реагировать на изменяющуюся обстановку в условиях антропогенной и техногенной нагрузки на экологическую растительную среду.

Ключевые слова: *WIN*, *Glycine max*, SNPs-маркеры, *in silico*, селекция, биоинформатика

Для цитирования: Тимкин П. Д., Пензин А. А. Биоинформатический метод определения однонуклеотидных полиморфизмов на примере гена *WIN* у *Glycine max* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 599–604. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-599-604>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Bioinformatic method for determining single nucleotide polymorphisms on the example of gene *WIN* in *Glycine max*

Pavel D. Timkin, Andrey A. Penzin

All-Russian Research Institute of soybean, Blagoveshchensk, Russian Federation

Corresponding author: Pavel D. Timkin, tpd@vniisoi.ru

Abstract. In this paper, a hypothetical method for locating SNPs (single nucleotide polymorphisms) on the example of the ribonuclease gene *WIN* was proposed. Ribonuclease comprises an enzyme that participates in defence reactions against fungal infections in soybeans, as well as other protective responses to biotic stress. Its belonging to the RNA-ases group determines the specific properties, namely the ability to degrade foreign nucleic acids. This ability provides for a general nonspecific immune response of the plant to the invasion of antigenic structures. Modern biotechnology calls for the development of molecular methods and approaches that will increase the resistance of a culture or accelerate the processes of its adaptation in

the field. This problem can be solved by using technologies of SNP artificial induction in those parts of the genome that encode proteins capable of acting in protective reactions against biotic stress. In the study, 5 single-nucleotide polymorphisms were proposed using bioinformatic analysis. Since the localisation and detection of SNPs comprise a challenging task due to the presence of a single nucleotide change, in the biotechnological practice, predictive analysis is carried out in order to localise the potential sequence of occurring single-nucleotide polymorphism. Following the identification of the hypothetical SNP location, they can be further detected using complex molecular methods, such as real-time PCR or local sequencing. This technology can become a powerful tool for breeding soybean varieties having predetermined properties. Such theoretical and predictive models will allow for a quicker response to the dynamic environment under manmade load on plants.

Keywords: WIN, *Glycine max*, SNPs markers, *in silico*, selection, bioinformatics

For citation: Timkin P. D., Penzin A. A. Bioinformatic method for determining single nucleotide polymorphisms on the example of gene WIN in *Glycine max*. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):599-604. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-599-604>.

ВВЕДЕНИЕ

SNPs (однонуклеотидный полиморфизм) – это отличия последовательности ДНК размером в один нуклеотид (А, Т, Г или С) в геноме (или в другой сравниваемой последовательности) представителей одного вида или между гомологичными участками гомологичных хромосом [1]. Замены нуклеотидов в гене бывают 2-х типов: синонимичные, когда замена одного нуклеотида в триплете не ведет к изменению аминокислоты в пептиде, и несинонимичные, когда изменение происходит.

Стоит отметить, что причины и механизмы, ведущие к появлению однонуклеотидных полиморфизмов, такие же, как у мутаций. К ним можно отнести мутации nonsense/missense. Missense-мутацией называют такую мутацию, в которой происходит замена нуклеотида, приводящая к замене аминокислоты в полипептиде [2]. В свою очередь, однонуклеотидная замена в nonsense-мутации приводит к образованию стоп-кодона. Номенклатурное различие крайне условно и формально, так, некоторые исследователи относят замену нуклеотида в гене к SNPs при условии, что данная замена встречается у более чем 1% от общей популяции [3].

Интерес к однонуклеотидным полиморфизмам у селекционеров и генетиков вызван тем, что их детекция и выявление свойств позволяет ускорить процесс создания новых сортов сои с заранее заданными свойствами, строить генетические карты, выявлять взаимосвязь фенотипа с генотипом [3, 4]. Внесение полиморфизмов в геном даст возможность повысить резистентность сортов сои к разнообразным биотическим или абиотическим стрессам. Также SNPs позволят задать нужные биохимические качества, например, повышенное содержание белка или липидов [5]. SNPs могут встречаться на протяжении всего генома как в его кодирующей, так и не кодирующей частях. В не кодирующей части наибольший интерес представляют так называемые QTL и SSR-маркеры, однако предсказание лока-

лизации их SNPs – более сложная и комплексная задача [6].

Современные методики белковой инженерии позволяют не проводить долгий мониторинг возможных нуклеотидных полиморфизмов и отбор нужных вариантов, после чего осуществляется гибридизация с целью закрепления полезных SNPs [7, 8]. С использованием биоинформатического анализа перед исследователями в области биотехнологии открываются возможности искусственной индукции подобных полиморфизмов с заранее заданными и известными свойствами. В литературе уже имеются описания применения подобных подходов в лабораторной практике [9]. Однако перед индукцией новых полиморфизмов требуется составление списка потенциальных кандидатов. Биоинформатика предоставляет широкий инструментарий для решения предсказательных задач в области прикладной генетики.

Целью данного исследования являлась разработка методологии предсказания локализации однонуклеотидных полиморфизмов в белок кодирующем гене *in silico* на основании информации об интересующем полипептиде.

В данной работе в качестве примерной модели предсказания был взят ген сои WIN, который согласно приведенным сведениям из базы данных Европейского института биоинформатики является фактором неспецифической резистентности к бактериальным или грибковым инфекциям^{1,2} [10]. Данное свойство может объясняться тем, что этот ген кодирует фермент рибонуклеазу, относящуюся к семейству РНК-аз, т. е. участвует в процессах деградации и распада нуклеиновых кислот в нормальном метаболизме самой клетки, а в случае инфекционных патологий выступает как часть неспецифического иммунного ответа.

Поиск информации из баз данных NCBI и Ensembl показал, что в данный момент не было обнаружено ни одного однонуклеотидного полимор-

¹Database for annotations of proteins by EMBL's EBI // European Molecular Biology Laboratory European Bioinformatics Institute [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/term/GO:0042742> (02.12.2022).

²Database for annotations of proteins by EMBL's EBI // European Molecular Biology Laboratory European Bioinformatics Institute [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/term/GO:0050832> (02.12.2022).

физма для гена *WIN* у *Glycine max*^{3,4}. Отсутствие информации об SNPs увеличивает спрос на поиск и локализацию этих маркеров для данного гена.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводились на базе лаборатории биотехнологии Всероссийского научно-исследовательского института сои. Информация об исследуемых белках была взята из открытой базы Uniprot⁵. С целью выявления полиморфизмов (*WIN*) был проведен ряд действий, согласно разработанной методике (рис. 1). С использованием алгоритма BLAST при заданном родстве в 35–99% были найдены белки с максимально схожей последовательностью. На основании степени родства и наличия аннотаций в базе данных Европейского института биоинформатики (EMBL)⁶ был подобран максимально гомологичный белок. Затем было проведено выравнивание аминокислотных последовательностей, найдены консервативные участки. На заключительном этапе работы среди ранее найденных участков были отобраны те, что являются полиморфными.

Отбор участков первичной структуры белка, несущих в себе информацию о возможном однону-



Рис. 1. Блок-схема последовательных действий в разработанной методологии, используемой в данном исследовании

Fig. 1. Flowchart of sequential actions in the developed methodology used in the study

клеотидном полиморфизме в первичной структуре ДНК, производился вручную. Поиск осуществлялся среди всех найденных в процессе выравнивания консервативных участков полипептидов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Во время идентификации целевой последовательности по базе Uniprot⁵ была взята полипептидная последовательность, кодируемая геном *WIN*, имеющая индекс по базе Q02243⁷. Данный фермент представляет собой короткую полипептидную цепь длиной в 102 аминокислоты и имеет молекулярную массу 11.124 kDa. После использования алгоритма BLAST был получен список из 250 полипептидов в ранге схожести от 35 до 99%, наиболее высокой степенью гомологии и наличием высокого кластера аннотаций обладал белок HEVL (рис. 2) ввиду высокой степени родства – 75%. HEVL относительно большой полипептид длиной 212 аминокислот. В базе данных он аннотируется с индексом P43082, является экспрессируемым у *Arabidopsis thaliana* (Резуховидка Таля) [12]. *Arabidopsis thaliana* – один из наиболее популярных объектов для генетических исследований ввиду короткого жизненного цикла, высокой плодовитости, малого размера генома, широкого ареала распространения [13–16]. Популярность для исследований данной культуры обеспечивает большой массив данных и аннотаций о геноме, протеоме и даже транскриптоме [17–19], что при высокой степени родства определенных генов и белков с *Glycine max* позволяет экстраполировать данные по гомологичному принципу.

На рис. 2 представлен финальный результат отбора с учетом ранее указанных метрических показателей. Такие метрики, как таксономическая принадлежность, длина первичной последовательности белка, наличие информации о 3-мерной структуре в PDB (Protein Data Bank) и т. д.,

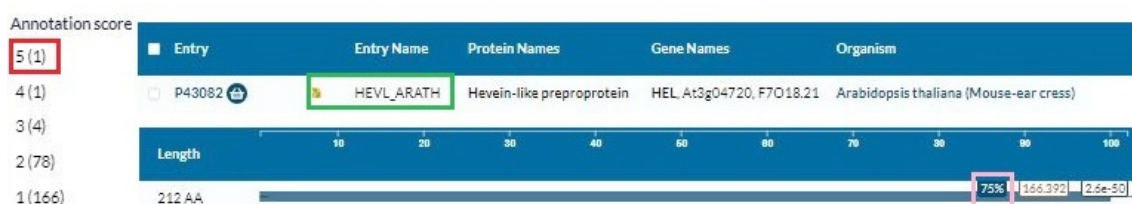


Рис. 2. Результат работы алгоритма BLAST (красный – ранг аннотаций, зеленый – имя протеина в базе данных, розовый – процент сходства)

Fig. 2. Result of the BLAST algorithm (red – the rank of annotations, green – the name of the protein in the database, pink – the percentage of similarity)

³National Center for Biotechnology Information [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/search/all/?term=WIN> (02.12.2022).

⁴Web site for bioinformatics annotation for plants [Электронный ресурс]. URL: <https://plants.ensembl.org/info/about/index.html> (02.12.2022).

⁵Database of primary protein sequences [Электронный ресурс]. URL: <https://www.uniprot.org> – database of primary protein sequences (02.12.2022).

⁶Database for annotations of proteins by EMBL's EBI // European Molecular Biology Laboratory European Bioinformatics Institute [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ebi.ac.uk/> (02.12.2022).

⁷The Protein Information Resource by bioinformatics [Электронный ресурс]. URL: <https://proteininformationresource.org/> (02.12.2022).



Рис. 3. Результаты выравнивания HEVL с Wound-induced Protein (фиолетовым цветом выделены консервативные участки, зеленым – предсказанные аминокислоты; цифрами обозначен номер последовательности)

Fig. 3. Results of alignment of HEVL with Wound-induced protein (conserved regions are highlighted in purple, predicted amino acids are highlighted in green; numbers indicate the sequence number)

не учитывались. Однако в зависимости от поставленных исследователями иных задач при применении данной методологии могут быть использованы и другие метрики.

По результату выравнивания выяснилось, что WIN имеет большое количество участков, консервативных по отношению к HEVL (рис. 3). Также была составлена матрица идентичности, равная 73,53% (рис. 4). Исходя из этого, делается вывод о высоком уровне гомологии, что в таком случае позволяет экстраполировать уже детектированные SNPs с HEVL на соевый протеин WIN.

В дальнейшем среди общего количества известных однонуклеотидных полиморфизмов для *Arabidopsis thaliana* был проведен отбор по совпа-

дениям, выявленным в результате выравнивания (таблица).

В итоге среди общего количества консервативных участков было отобрано 5 аминокислот в кодонах, в которых возможны однонуклеотидные полиморфизмы, имеющие следующие порядковые номера: 11, 64, 73, 76, 86 у фермента сои WIN.

ВЫВОДЫ

В ходе проведенного исследования по нашей методологии среди последовательности аминокислот было найдено 5 аминокислотных остатков, входящих в консервативные участки и вызванных однонуклеотидными полиморфизмами в соответствующем гене. Эти данные могут быть использованы в селекционном процессе для последующего получения нового сорта растений с устойчивостью к фитопатогенным грибкам. Однако следует учесть, что предсказание локализации однонуклеотидных полиморфизмов *in silico* носит теоретический характер и для дальнейшего подтверждения потребуется применение технически сложного оборудования и дорогостоящих методов. В лабораториях для детекции SNPs требуется тщательный мониторинг большого количества образцов разных сортов. Описанная в статье методика необходима для проведения искусственной индукции предсказанных мутаций. Дальнейшим этапом будет являться выявление изменений молекулярных свойств с использованием методов рентгеноструктурного анализа или криоэлектронной микроскопии. Также стоит учитывать, что ручной поиск полиморфизмов в предложенном методе может быть успешным, если первичные последовательности аминокислот короткие (имеют длину не более 250 букв), в случае работы с более длинными строками рекомендуется автоматизация данного процесса. Разработанная методика позволит сократить трудозатраты на нахождение полиморфизмов, а также нужное на это время благодаря тому, что отпадает необходимость полного исследования генома *in vitro*.

Percent Identity Matrix



Рис. 4. Матрица идентичности HEVL и WIN, полученная в результате выравнивания

Fig. 4. Identity matrix HEVL and WIN resulting from alignment

Локализация вариативных аминокислот
Localization of variable amino acids

Порядковый номер АМК в HEVL	Порядковый номер АМК в Wound-induced Protein	Заменяемые аминокислоты	Кодон (полу жирным помечен SNPs)
117	11	W-C	TGG/TG I
170	64	I-V	ATA/G T A
179	73	Q-K	CAA/ A AA
182	76	L-I	CTC/ A TC
192	86	G-D	GGC/G A C

REFERENCES

1. Lander E. S. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001;409:860-921. <https://doi.org/10.1038/35057062>.
2. Makki R. M., Saeedi A. A., Khan T. K., Ali H. M., Ramadan A. M. Single nucleotide polymorphism analysis in plastomes of eight *Catharanthus roseus* cultivars. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2019;33(1):419-428. <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1579671>.
3. Sukhumsirichart W. Polymorphisms. In: *Genetic Diversity and Disease Susceptibility*. Liu Ya. (ed.). 2018, 164 p. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76728>.
4. Morgil H., Gercek Y. C., Tulum I. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in plant genetics and breeding. In: *The Recent Topics in Genetic Polymorphisms*. Çalışkan M., Erol O., Öz G. C. (eds.). 2020, 148 p. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91886>.
5. Achard F., Butruille M., Madjarac S., Nelson P. T., Duesing J., Laffont J.-L., et al. Single nucleotide polymorphisms facilitate distinctness-uniformity-stability testing of soybean cultivars for plant variety protection. *Crop Science*. 2020;60(5):2280-2303. <https://doi.org/10.1002/csc2.20201>.
6. Freudenthal J. A., Ankenbrand M. J., Grimm D. G., Korte A. GWAS-flow: a GPU accelerated framework for efficient permutation based genome-wide association studies. *BioRxiv*. 2019;1:783100. <https://doi.org/10.1101/783100>.
7. Fan C., Zhai H., Wang H., Yue Y., Zhang M., Li J., et al. Identification of QTLs controlling grain protein concentration using a high-density SNP and SSR linkage map in barley (*Hordeum vulgare* L.). *BMC Plant Biology*. 2017;17:122. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1067-6>.
8. Zhang W., Xu W., Li S., Zhang H., Liu X., Cui X., et al. GmAOC₄ modulates seed germination by regulating JA biosynthesis in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*. 2022;135(2):439-447. <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03974-0>.
9. Mathur R., Rana B. S., Jha A. K. Single nucleotide polymorphism (SNP). In: *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*. Vonk J., Shackelford T. (eds.). Cham., Springer; 2018, 7539 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47829-6_2049-1.
10. Tchaikovskii V., Desnick R. J., Bishop D. F. Molecular expression, characterization and mechanism of ALAS₂ gain-of-function mutants. *Molecular Medicine*. 2019;24(25):4. <https://doi.org/10.1186/s10020-019-0070-9>.
11. Martynenko N., Lavrentieva S., Tarasova O. Influence of Septoria glycines Hemmi on the enzymes' activity of hydrolytic Glycines max (L.) Merr seed complex. *Fundamental and Applied Research in Biology and Agriculture: International Scientific and Practical Conference*. 2021;254:02020. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202125402020>.
12. Howe K. L., Contreras-Moreira B., De Silva N., Maslen G., Akanni W., Allen J., et al. Ensembl genomes 2020 – enabling non-vertebrate genomic research. *Nucleic Acids Research*. 2020;48(D1):D689-D695. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz890>.
13. Rensink W. A., Buell C. R. Arabidopsis to rice. Applying knowledge from a weed to enhance our understanding of a crop species. *Plant Physiology*. 2004;135(2):622-629. <https://doi.org/10.1104/pp.104.040170>.
14. Coelho S. M., Peters A. F., Charrier B., Roze D., Destombe C., Valero M., et al. Complex life cycles of multicellular eukaryotes: new approaches based on the use of model organisms. *Gene*. 2007;406(1-2):152-170. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2007.07.025>.
15. Meyerowitz E. M. Prehistory and history of Arabidopsis research. *Plant Physiology*. 2001;125(1):15-19.
16. Leonelli S. Arabidopsis, the botanical Drosophila: from mouse cress to model organism. *Endeavour*. 2007;31(1):34-38. <https://doi.org/10.1016/j.endeavour.2007.01.003>.
17. Lan Y., Sun R., Ouyang J., Ding W., Kim M. J., Wu J., et al. AtMAD: Arabidopsis thaliana multi-omics association database. *Nucleic Acids Research*. 2021;49(D1):D1445-D1451. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1042>.
18. Jampala P., Garhewal A., Lodha M. Functions of long non-coding RNA in Arabidopsis thaliana. *Plant Signaling & Behavior*. 2021;16(9):1925440. <https://doi.org/10.1080/15592324.2021.1925440>.
19. Yu X., Vandivier L. E., Gregory B. D. NAD-seq for profiling the NAD⁺ capped transcriptome of Arabidopsis thaliana. *STAR Protocols*. 2021;2(4):100901. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2021.100901>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

П. Д. Тимкин,
младший научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский
институт сои,
675000, г. Благовещенск, Игнатьевское шоссе,
19, Российская Федерация,
tpd@vniisoi.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6655-1049>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Pavel D. Timkin,
Junior Researcher,
All-Russian Research Institute of Soybean,
19, Ignatievskoe Shosse, Blagoveshchensk,
675000, Russian Federation,
tpd@vniisoi.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6655-1049>

А. А. Пензин,
младший научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский
институт сои,
675000, г. Благовещенск, Игнатьевское шоссе,
19, Российская Федерация,
paa@vniiso.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8578-9818>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 16.11.2022.
Одобрена после рецензирования 29.11.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.

Andrey A. Penzin,
Junior Researcher,
All-Russian Research Institute of soybean,
19, Ignatievskoe Shosse, Blagoveshchensk,
675000, Russian Federation,
paa@vniiso.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8578-9818>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.*

Information about the article

The article was submitted 16.11.2022.
Approved after reviewing 29.11.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.

Научная статья

УДК 581.192.1

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-605-611>



Элементный состав микростробиллов и почек *Pinus sylvestris*, *Pinus sibirica* и *Pinus pumila*

Валентина Германовна Ширеторова*, Светлана Аркадьевна Эрдынеева*,**, Лариса Доржиевна Раднаева*,**

*Байкальский институт природопользования СО РАН, г. Улан-Удэ, Российская Федерация

**Бурятский государственный университет, г. Улан-Удэ, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Ширеторова Валентина Германовна, vgshiretorova@mail.ru

Аннотация. В последние годы среди населения наблюдается значительный рост популярности БАД из сосновой пыльцы, что обусловлено более чем тысячелетним опытом ее применения в китайской традиционной медицине и широким спектром ее фармакологической активности. Для получения сосновой пыльцы заготавливают микростробилы перед началом цветения, после ее отделения образуются отходы в виде пустых микростробиллов (ПМ) в количестве 90–95% от массы сырья. Цель работы – определение элементного состава микростробиллов *Pinus sylvestris*, *P. sibirica* и *P. pumila*, полученных после отделения из них пыльцы (ПМ), и сравнение с фармакопейным сырьем – почками *P. sylvestris*. Анализ элементного состава проводили с использованием атомно-абсорбционной спектрофотометрии с предварительной кислотной минерализацией в микроволновой системе. Сравнительный анализ элементного состава показал, что ПМ содержат значительное количество К (8710–10187 мг/кг), Mg (627–1079 мг/кг), Mn (129–179 мг/кг), а также Zn (37–67 мг/кг) и Cu (7,4–10,3 мг/кг). Составлены ряды накопления химических элементов, которые оказались схожи для микростробиллов и почек исследуемых видов сосен (K>Mg>Ca>Mn>Fe~Zn>Na>Cu>Ni~Cr>Co>Pb>Cd>Hg). ПМ могут быть использованы для обогащения рациона такими макро- и микроэлементами, как К, Mg, Mn, Fe, Zn и Cu. Содержание токсичных Cd, Pb и Hg было ниже предельно допустимых нормативов для лекарственного растительного сырья и БАД на его основе. Данные по элементному составу ПМ *P. sylvestris*, *P. sibirica*, *P. pumila* и почек *P. sibirica*, *P. pumila* получены впервые и могут быть использованы при дальнейшей разработке показателей санитарно-гигиенической безопасности нового вида сырья.

Ключевые слова: микростробилы, почки, элементный состав, *Pinus sylvestris*, *Pinus sibirica*, *Pinus pumila*

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Байкальского института природопользования СО РАН (AAAA-A21-121011890027-0).

Для цитирования: Ширеторова В. Г., Эрдынеева С. А., Раднаева Л. Д. Элементный состав микростробиллов и почек *Pinus sylvestris*, *Pinus sibirica* и *Pinus pumila* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 605–611. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-605-611>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Elemental composition of microstrobili and sprouts of *Pinus sylvestris*, *Pinus sibirica* and *Pinus pumila*

Valentina G. Shiretorova*, Svetlana A. Erdynееva*,**, Larisa D. Radnaeva*,**

*Baikal Institute of Nature Management SB RAS, Ulan-Ude, Russian Federation

**Buryat State University, Ulan-Ude, Russian Federation

Corresponding author: Valentina G. Shiretorova, vgshiretorova@mail.ru

Abstract. In recent years, the popularity of dietary supplements based on pine pollen has significantly increased due to over a thousand years of its use in Chinese traditional medicine and diverse biological activity. Microstrobili are harvested prior to flowering in order to obtain pine pollen, and, following its separation, waste comprising empty microstrobili in the amount of 90–95% of the mass of raw material is formed. In this work, the elemental composition of *Pinus sylvestris*, *P. sibirica* and *P. pumila* microstrobili obtained following the separation of pollen (empty microstrobili (EM) was determined and compared

© Ширеторова В. Г., Эрдынеева С. А., Раднаева Л. Д., 2022

with pharmacopoeial raw material, i.e., *P. sylvestris* sprouts. The elemental composition was analysed using atomic absorption spectroscopy with preliminary acid mineralisation in a microwave system. A comparative analysis of the elemental composition showed that EM contains a significant amount of K (8710–10187 mg/kg), Mg (627–1079 mg/kg), Mn (129–179 mg/kg), as well as Zn (37–67 mg/kg) and Cu (7.4–10.3 mg/kg). The series of accumulation of chemical elements was identical for microstrobili and sprouts of the studied pine species ($K > Mg > Ca > Mn > Fe \sim Zn > Na > Cu > Ni > Cr > Co > Pb > Cd > Hg$). EM can be used to enrich the diet with macro- and microelements such as K, Mg, Mn, Fe, Zn and Cu. The content of toxic Cd, Pb and Hg was below the maximum permissible standards for medicinal plant raw materials and dietary supplements thereof. Obtained for the first time, data on the elemental composition of EM of *P. sylvestris*, *P. sibirica*, *P. pumila* and sprouts of *P. sibirica* and *P. pumila* can be used for further sanitary measurements of a new type of raw material.

Keywords: microstrobili, sprouts, elemental composition, *Pinus sylvestris*, *Pinus sibirica*, *Pinus pumila*

Funding. The work was supported by the State assignment for the Baikal Institute of Nature Management SB RAS (AAAA-A21-121011890027-0).

For citation: Shiretorova V. G., Erdyneeva S. A., Radnaeva L. D. Elemental composition of microstrobili and sprouts of *Pinus sylvestris*, *Pinus sibirica* and *Pinus pumila*. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):605-611. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-605-611>.

ВВЕДЕНИЕ

Вечнозеленое дерево (реже кустарник), относящееся к роду сосна (*Pinus*) и семейству Сосновые (Pinaceae), насчитывает 130 видов и является самым широко распространенным видом хвойных в Северном полушарии [1]. В народной медицине издавна использовались хвоя и почки сосен, а также смола, кора и шишки некоторых видов. Настойки и отвары на их основе применяли как противовоспалительное, общеукрепляющее и витаминное средство [2]. В странах Азии, особенно в Китае и Корее, наибольшей популярностью пользуется пыльца местных видов сосен. Опыт ее применения в традиционной китайской медицине насчитывает более 2 000 лет. Ее принимали для укрепления иммунитета, поднятия тонуса, улучшения общего состояния организма, замедления процессов старения. Исследователями отмечается [3], что за последние 20 лет наблюдается активизация фармакологических и клинических исследований сосновой пыльцы, о чем свидетельствует рост количества публикаций на эту тему. Установлены иммуномодулирующая, противовирусная, противовоспалительная, антиоксидантная и гепатопротекторная активности экстрактов [4–7] и полисахаридов [8–12] пыльцы азиатских видов сосен. Исследование пыльцы *P. sylvestris* и *P. pumila*, проведенное авторами ранее, показало содержание в ней флавоноидов, аминокислот, аскорбиновой кислоты, макро- и микроэлементов [13]. Необходимо отметить, что для получения сосновой пыльцы заготавливают микростробиллы перед началом цветения, после ее отделения образуются отходы в виде пустых микростробиллов (ПМ) в количестве 90–95% от массы исходного сырья. Для оценки возможности рационального использования ценного растительного сырья ранее авторами было исследовано эфирное масло из ПМ *P. sylvestris*

и показано достаточное его содержание и сходство компонентного состава с фармакопейным сырьем – почками сосны обыкновенной [14].

Поскольку эффективность лекарственного растительного сырья часто обусловлена действием биологически активных веществ в комплексе с его природным минеральным составом, целью работы было определение содержания макро- и микроэлементов в ПМ и для сравнения в фармакопейном сырье – почках *P. sylvestris*, *P. sibirica* и *P. pumila*, а также оценка экологической безопасности нового вида сырья по содержанию некоторых тяжелых металлов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Сбор сырья почек и микростробиллов *P. sylvestris*, *P. sibirica* и *P. pumila* для определения элементного состава осуществляли в начале мая (почки) и конце мая-июне (микростробиллы) 2020–2021 гг. в Кабанском и Прибайкальском районах Республики Бурятия. Сбор почек производили согласно рекомендациям для фармакопейного сырья «Сосны обыкновенной почки»¹. Сбор «мужских» шишек (микростробиллов) выполняли за 1–3 дня до начала пыления. Собранное сырье раскладывали тонким слоем и сушили в закрытых проветриваемых помещениях без попадания прямых солнечных лучей до высыпания пыльцы из микростробиллов. Пыльцу отделяли путем просеивания через сито 0,5 мм. ПМ до проведения анализа хранили в бумажных пакетах при комнатной температуре.

Подготовку проб к элементному анализу осуществляли путем разложения предварительно измельченных образцов растительного сырья с концентрированной азотной кислотой в микроволновой системе MARS 6 (СЕМ, США). Определение количественного содержания элементов проводили атомно-абсорбционным методом с использованием спектрофотометра

¹Государственная фармакопея Российской Федерации: в 4 томах / ред. С. В. Емшанова, О. Г. Потанина, Е. В. Буданова, В. В. Чистяков. М., 2018. [Электронный ресурс]. URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (20.06.2022).

Solaar M6 (Thermo Scientific, США). Содержание ртути устанавливали методом холодного пара с помощью ртутно-гидридной приставки VP-100 (Thermo Scientific, США). Определение всех элементов проводили в 3-кратной повторности, затем рассчитывали среднюю арифметическую и ее ошибку ($M \pm m$). Правильность результатов анализа оценивали с использованием стандартных образцов листа березы ЛБ-1 (ГСО 8923-2007) и луговой травосмеси Тр-1 (ГСО 8922-2007). Погрешность измерений составила менее 10% от аттестованных значений.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Байкальский институт природопользования СО РАН».

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Физиологическая роль того или иного элемента в метаболизме растительного организма оказывает влияние на его содержание в разных органах и тканях растений. Следует отметить, что сосновые почки относятся к вегетативным органам растения, а микростробилов – к генеративным. Почки сосны красновато-коричневые, удлинённые яйцевидно-цилиндрические, остроконечные длиной от 1 до 4 см, в большинстве смолистые, расположены в верхней части побега мутовчато вокруг верхушечной почки. Микростробилов («мужские шишки») яйцевидно-конической или удлинённо-яйцевидной формы, желтого и красно-желтого цвета длиной 3–5 см состоят из оси, на которой по спирали или мутовчато расположены микроспорофиллы,

на их обратной стороне находятся микроспорангии (пыльцевые мешки), в которых развивается пыльца.

Результаты анализа элементного состава ПМ и почек исследуемых сосен представлены в таблице.

Для выявления особенностей накопления макро- и микроэлементов ПМ и почками сосен было проведено сравнение с данными, полученными авторами ранее для пыльцы, извлеченной из этих же микростробилов [15] и хвои *P. sylvestris*, произрастающей в Бурятии (рисунок), а также с имеющимися в литературе данными элементного состава почек *P. sylvestris* [16, 17]. С целью минимизации влияния климато-географических условий места произрастания и получения сопоставимых данных сбор микростробилов осуществлялся на тех же опытных площадках в популяциях, что и сбор хвои.

Сравнительный анализ макроэлементов показал, что ПМ, почки и пыльца содержат значительное количество калия (8710–10187 мг/кг) и магния (627–1079 мг/кг) и низкое количество кальция (664–911 мг/кг), что характерно для молодых растущих тканей с интенсивным обменом веществ [18].

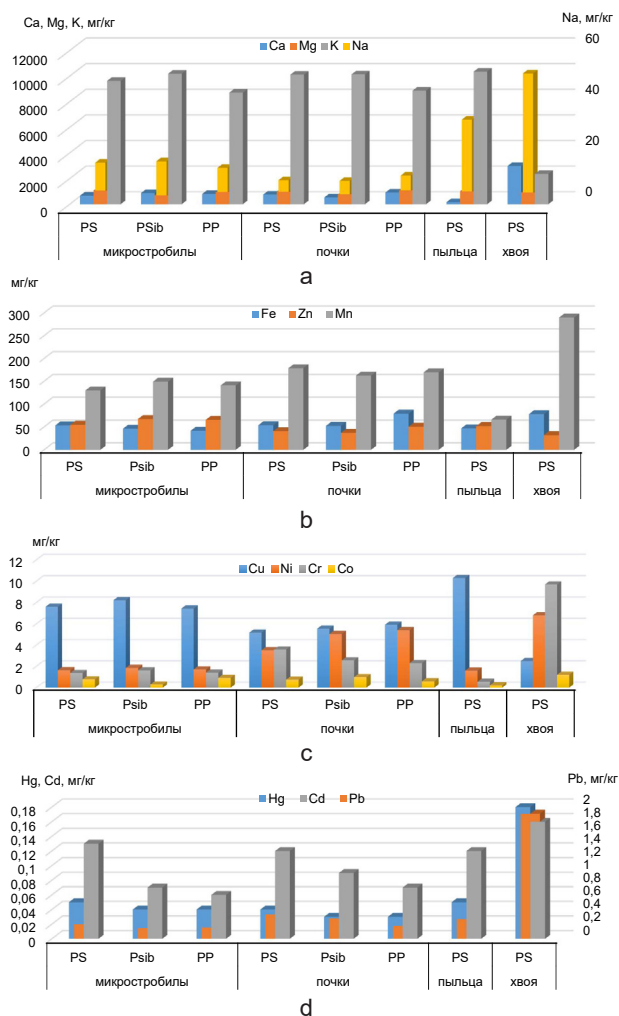
Из микроэлементов ПМ и почек *P. sylvestris*, *P. sibirica* и *P. pumila* в большей степени аккумулируют металлы, участвующие в жизненно важных для растений биохимических процессах, – Fe (42–79 мг/кг), Zn (37–67 мг/кг) и Mn (129–169 мг/кг), что согласуется с литературными данными по элементному составу сосновых почек [16, 17].

Сравнение полученных нами результатов с дан-

Элементный состав пустых микростробилов и почек *P. sylvestris* (PS), *P. sibirica* (PSib), *P. pumila* (PP), мг/кг
Elemental composition of empty microstrobili and buds of *P. sylvestris* (PS), *P. sibirica* (PSib), *P. pumila* (PP), mg/kg

Элемент	Пустые микростробилов			Почки			Почки [16]	Почки [17]
	PS	PSib	PP	PS	PSib	PP	PS	PS
K	9630±18	10187±23	8710±17	10109±42	10128±51	8859±74	3560–4840	–
Mg	1066±21	996±16	957±25	976±34	966±25	1079±21	980–1310	–
Ca	664±12	875±35	800±24	754±27	830±16	911±30	2760–3440	–
Na	16,2±1,5	16,7±1,0	14,2±0,8	9,4±0,6	9,1±0,9	11,2±1,0	–*	–
Mn	129±11	149±13	141±12	179±18	163±14	169±12	74,4–88,1	19,5–49,7
Fe	53,4±4,3	46,2±1,4	41,6±2,4	53,8±2,5	52,4±1,1	79,1±2,3	40–120	48,5±17,1
Zn	54,8±2,2	67,4±1,8	65,4±3,6	40,7±3,1	36,9±1,8	50,5±4,1	20,0–23,9	11,9–72,4
Cu	7,60±0,32	8,22±0,71	7,43±0,31	5,24±0,32	5,58±0,43	5,94±0,41	6,12–8,12	2,2–12,1
Cr	0,27±0,12	0,26±0,08	0,24±0,05	0,46±0,31	0,36±0,12	0,33±0,18	0,18–0,32	0,50–1,08
Ni	1,64±0,12	1,85±0,16	1,71±0,12	3,51±0,25	5,04±0,33	5,40±0,21	9,7–14,3	0,52–1,69
Co	0,77±0,01	0,59±0,02	0,91±0,05	0,75±0,04	0,98±0,08	0,60±0,12	н.о.**	0,26–1,02
Pb	0,22±0,03	0,16±0,09	0,17±0,04	0,37±0,06	0,31±0,11	0,20±0,07	0,34–0,84	0,5–1,8
Cd	0,13±0,03	0,07±0,01	0,06±0,01	0,12±0,01	0,09±0,01	0,07±0,01	н.о.	0,04–0,24
Hg	0,07±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01	–	–

Примечание. * – не определялось; ** – не обнаружено.



Содержание макро- (а) и микроэлементов (б, в), тяжелых металлов (д) в микростробилах, почках, пыльце и хвое *P. sylvestris* (PS), *P. sibirica* (PSib), *P. pumila* (PP)

Content of macro- (a) and microelements (b, c), heavy metals (d) in microstrobiles, buds, pollen and needles of *P. sylvestris* (PS), *P. sibirica* (PSib), *P. pumila* (PP)

ными для аптечного сырья почек *P. sylvestris* различных производителей [16] показало сопоставимое содержание магния, железа, меди и хрома, более высокое (в 2 раза) содержание калия, марганца, цинка и меньшее (в 2–4 раза) кальция и никеля. Такие различия по содержанию элементов могут быть обусловлены геохимическими особенностями районов заготовки.

При сравнении микроэлементного состава разных частей сосен можно отметить высокое содержание марганца в таких богатых эфирными маслами частях растения, как хвоя, ПМ и почки, что обусловлено важной ролью марганца в биосин-

тетических процессах, ведущих к образованию основных классов изопреноидов [19]. Более высокое в сравнении с вегетативными органами – почками и хвоей – содержание цинка и меди наблюдается в ПМ и пыльце, что связано с их репродуктивной функцией [20]. Содержание хрома было выше в хвое и почках, что, возможно, обусловлено его участием в фотосинтезе (известно, что хром повышает содержание хлорофилла и продуктивность фотосинтеза в листьях) [21]. В целом по сравнению с хвоей можно отметить более низкое содержание тяжелых металлов в ПМ и пыльце, что может быть обусловлено тем, что в репродуктивных органах растений микроэлементы (за исключением цинка и меди, играющих важную физиологическую роль в процессах оплодотворения и прорастания семян) накапливаются по барьерному типу, т. к. строго генетически контролируются [20].

По уровню содержания элементов в ПМ и почках были составлены ряды накопления, которые были одинаковы для *P. sylvestris*, *P. sibirica*, *P. pumila* ($K > Mg > Ca > Mn > Fe \sim Zn > Na > Cu > Ni < Cr > Co > Pb > Cd > Hg$). Сравнение элементного состава ПМ и почек показало их схожесть по содержанию макро- и микроэлементов.

Содержание свинца, кадмия и ртути во всех исследованных образцах ПМ и почек сосен не превышало нормативов, установленных для лекарственного растительного сырья и БАД на его основе^{1,2}. Сравнение содержаний макро- и микроэлементов в ПМ и почках *P. sylvestris*, *P. sibirica*, *P. pumila* с суточной потребностью для взрослых³ показало, что они могут быть использованы как дополнительный источник калия, магния, марганца, железа, цинка и меди.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования был определен элементный состав микростробилов *P. sylvestris*, *P. sibirica*, *P. pumila*, полученных после отделения из них пыльцы, и почек *P. sibirica* и *P. pumila*. Показаны особенности элементного состава сосновых ПМ и почек в сравнении с пыльцой и хвоей, обусловленные физиологической функцией элементов в растительном организме. Установлено, что ПМ и почки могут быть использованы для обогащения рациона такими макро- и микроэлементами, как K, Mg, Mn, Fe, Zn и Cu. Содержание токсичных Cd, Pb и Hg было ниже предельно допустимых нормативов для лекарственного растительного сырья и БАД на его основе. Данные по элементному составу ПМ *P. sylvestris*, *P. sibirica*, *P. pumila* и почек *P. sibirica*, *P. pumila* получены впервые и могут быть использованы при дальнейшей разработке показателей санитарно-гигиенической безопасности нового вида сырья.

²СанПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов (для биологически активных добавок к пище на растительной основе). М., 2001. 269 с.

³МР 2.3.1.2432-08. 2.3.1. Рациональное питание. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации. Методические рекомендации (утв. Роспотребнадзором 18.12.2008).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ioannou E. The genus *Pinus*: a comparative study on the needle essential oil composition of 46 pine species // *Phytochemistry Reviews*. 2014. Vol. 13. P. 741–768. <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9338-4>.
2. Кароматов И. Дж., Кодирова Д. У. История фитотерапии – сосна в древней и народной медицине // *Биология и интегративная медицина*. 2018. N 4. С. 5–11.
3. Liang S., Liang N., Bu F., Lai B., Zhang Y., Cao H., et al. The potential effects and use of Chinese herbal medicine pine pollen (*Pinus pollen*): a bibliometric analysis of pharmacological and clinical studies // *World Journal of Traditional Chinese Medicine*. 2020. Vol. 6, no. 2. P. 163–170. https://doi.org/10.4103/wjtcn.wjtcn_4_20.
4. Choi E. Antinociceptive and antiinflammatory activities of pine (*Pinus densiflora*) pollen extract // *Phytotherapy Research*. 2007. Vol. 21. P. 471–475. <https://doi.org/10.1002/ptr.2103>.
5. Lee K. H. Effect of pine pollen extract on experimental chronic arthritis // *Phytotherapy Research*. 2009. Vol. 23, no. 5. P. 651–657. <https://doi.org/10.1002/ptr.2526>.
6. Tao C., Jin X., Zhao L., Ma L., Li R., Zhao P., et al. The protective effects of Masson pine pollen aqueous extract on CC14-induced oxidative damage of human hepatic cells // *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2015. Vol. 8, no. 10. P. 17773–17780.
7. Kim O. J., Jo E. S., Jo M. Y. Anti-inflammatory efficacy and liver protective activity of pine pollen according to probe sonicator ultrasonic disintegration extraction method // *Applied Chemistry for Engineering*. 2019. Vol. 30, no. 5. P. 569–579. <https://doi.org/10.14478/ace.2019.1053>.
8. Zhou C. Preliminary characterization, antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from Taishan *Pinus massoniana* pollen // *Molecules*. 2018. Vol. 23, no. 2. P. 281. <https://doi.org/10.3390/molecules23020281>.
9. Yu C., Wei K., Liu L., Yang Sh., Hu L., Zhao P., et al. Taishan *Pinus massoniana* pollen polysaccharide inhibits subgroup J avian leucosis virus infection by directly blocking virus infection and improving immunity // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. P. 44353. <https://doi.org/10.1038/srep44353>.
10. Shang H., Sha Z., Wang H., Miao Y., Niu X., Chen R., et al. *Pinus massoniana* pollen polysaccharide inhibits H9N2 subtype influenza virus infection both in vitro and in vivo // *Veterinary Microbiology*. 2020. Vol. 248. P. 108803. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108803>.
11. Sha Z., Shang H., Miao Y., Huang J., Niu X., Chen R., et al. Polysaccharides from *Pinus massoniana* pollen improve intestinal mucosal immunity in chickens // *Poultry Science*. 2021. Vol. 100, no. 2. P. 507–516. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.015>.
12. Shang H., Niu X., Cui W., Sha Z., Wang C., Huang T., et al. Anti-tumor activity of polysaccharides extracted from *Pinus massoniana* pollen in colorectal cancer- in vitro and in vivo studies // *Food & Function*. 2022. Vol. 13, no. 11. P. 6350–6361. <https://doi.org/10.1039/d1fo03908c>.
13. Эрдынеева С. А., Ширеторова В. Г., Раднаева Л. Д. Фармакогностическое исследование пыльцы *Pinus sylvestris* L. и *Pinus pumila* (Pall) Regel // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021. Т. 24. N 2. С. 29–34. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-02-05>.
14. Эрдынеева С. А., Ширеторова В. Г., Раднаева Л. Д. Сравнительное исследование компонентного состава эфирного масла почек и микростробиллов *Pinus sylvestris* L. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022. Т. 25. N 1. С. 3–9. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-01-01>.
15. Ширеторова В. Г., Эрдынеева С. А., Раднаева Л. Д. Элементный состав пыльцы *Pinus sylvestris* L., *P. sibirica du tour* и *P. pumila* (Pall.) Regel // Химия растительного сырья. 2022. N 2. С. 233–242. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20220210171>.
16. Кондрашев С. В., Нестеров Г. В., Бобкова Н. В. Изучение микроэлементного состава почек сосны методом рентгенофлуоресцентного анализа // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. 2019. N 1. С. 56–59. <https://doi.org/10.26787/nydha-2226-7425-2019-21-1-56-59>.
17. Егорова И. Н., Неверова О. А., Григорьева Т. И. Оценка содержания тяжелых металлов в почках *Pinus sylvestris* L., произрастающей на породном отвале угольного разреза // Современные проблемы науки и образования. 2015. N 6. С. 598.
18. Тихомирова Л. И., Базарнова Н. Г., Халявин И. А. Элементный состав *Iris sibirica* L. в культуре *in vitro* // Химия растительного сырья. 2017. N 2. С. 119–126. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017021517>.
19. Племенков В. В. Химия изопреноидов. Барнаул: Изд-во Алт. гос. ун-та, 2007. 322 с.
20. Кашин В. К., Убугунов Л. Л. Особенности накопления микроэлементов в зерне пшеницы в Западном Забайкалье // *Агрохимия*. 2012. N 4. С. 68–76.
21. Бессонова В. П., Иванченко О. Е. Накопление хрома в растениях и его токсичность // Питання біоіндикації та екології. 2011. N 16-2. С. 35–52.

REFERENCES

1. Ioannou E. The genus *Pinus*: a comparative study on the needle essential oil composition of 46 pine species. *Phytochemistry Reviews*. 2014;13:741-768. <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9338-4>.

2. Karomatov I. Dz., Kodirova D. U. History of phytotherapy – pine in ancient and national medicine. *Biologiya i integrativnaya meditsina = Biology and integrative Medicine*. 2018;(4):5-11. (In Russian).
3. Liang S., Liang N., Bu F., Lai B., Zhang Y., Cao H., et al. The potential effects and use of Chinese herbal medicine pine pollen (*Pinus* pollen): a bibliometric analysis of pharmacological and clinical studies. *World Journal of Traditional Chinese Medicine*. 2020;6(2):163-170. https://doi.org/10.4103/wjtc.wjtc_4_20.
4. Choi E. Antinociceptive and antiinflammatory activities of pine (*Pinus densiflora*) pollen extract. *Phytotherapy Research*. 2007;21:471-475. <https://doi.org/10.1002/ptr.2103>.
5. Lee K. H. Effect of pine pollen extract on experimental chronic arthritis. *Phytotherapy Research*. 2009;23(5):651-657. <https://doi.org/10.1002/ptr.2526>.
6. Tao C., Jin X., Zhao L., Ma L., Li R., Zhao P., et al. The protective effects of Masson pine pollen aqueous extract on CC14-induced oxidative damage of human hepatic cells. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2015;8(10):17773-17780.
7. Kim O. J., Jo E. S., Jo M. Y. Anti-inflammatory efficacy and liver protective activity of pine pollen according to probe sonicator ultrasonic disintegration extraction method. *Applied Chemistry for Engineering*. 2019;30(5):569-579. <https://doi.org/10.14478/ace.2019.1053>.
8. Zhou C. Preliminary characterization, antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from Taishan *Pinus massoniana* pollen. *Molecules*. 2018;23(2):281. <https://doi.org/10.3390/molecules23020281>.
9. Yu C., Wei K., Liu L., Yang Sh., Hu L., Zhao P., et al. Taishan *Pinus massoniana* pollen polysaccharide inhibits subgroup J avian leucosis virus infection by directly blocking virus infection and improving immunity. *Scientific Reports*. 2017;7:44353. <https://doi.org/10.1038/srep44353>.
10. Shang H., Sha Z., Wang H., Miao Y., Niu X., Chen R., et al. *Pinus massoniana* pollen polysaccharide inhibits H9N2 subtype influenza virus infection both in vitro and in vivo. *Veterinary Microbiology*. 2020;248:108803. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108803>.
11. Sha Z., Shang H., Miao Y., Huang J., Niu X., Chen R., et al. Polysaccharides from *Pinus massoniana* pollen improve intestinal mucosal immunity in chickens. *Poultry Science*. 2021;100(2):507-516. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.015>.
12. Shang H., Niu X., Cui W., Sha Z., Wang C., Huang T., et al. Anti-tumor activity of polysaccharides extracted from *Pinus massoniana* pollen in colorectal cancer- in vitro and in vivo studies. *Food & Function*. 2022;13(11):6350-6361. <https://doi.org/10.1039/d1fo03908c>.
13. Erdynееva S. A., Shiretorova V. G., Radnaeva L. D. Pharmacognostic study of the pollen of *Pinus sylvestris* L. and *Pinus pumila* (Pall) Regel. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2021;24(2):29-34. (In Russian). <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-02-05>.
14. Erdynееva S. A., Shiretorova V. G., Radnaeva L. D. Comparative study of the essential oil composition of pine buds and microstrobils (*Pinus Sylvestris* L.). *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii = Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2022;25(1):3-9. (In Russian). <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-01-01>.
15. Shiretorova V. G., Erdynееva S. A., Radnaeva L. D. Elemental composition of the *Pinus sylvestris* L., *P. Sibirica du tour* and *P. pumila* (Pall.) Regel pollen. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2022;(2):233-242. (In Russian). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20220210171>.
16. Kondrashev S. V., Nesterov G. V., Bobkova N. V. Study of microelement composition of pine buds by X-ray fluorescence analysis. *Zhurnal nauchnykh statei Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke = The Journal of Scientific Articles Health and Education Millennium*. 2019;(1):56-59. (In Russian). <https://doi.org/10.26787/nydha-2226-7425-2019-21-1-56-59>.
17. Egorova I. N., Neverova O. A., Grigoreva T. I. Assessment of heavy metals in the buds of *Pinus sylvestris* L., growing on coal spoil heap. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015;(6):598. (In Russian).
18. Tikhomirova L. I., Bazarnova N. G., Khatyavin I. A. Elemental composition of *Iris sibirica* L. in vitro culture. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2017;(2):119-126. (In Russian). <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017021517>.
19. Plemenkov V. V. *Chemistry of isoprenoids*. Barnaul: Izd-vo Alt. gos. un-ta; 2007, 322 p.
20. Kashin V. K., Ubugunov L. L. Accumulation features of microelements in wheat grain in Western Transbaicalia. *Agrokimiya = Eurasian Soil Science*. 2012;(4):68-76. (In Russian).
21. Bessonova V. P., Ivanchenko O. E. Accumulation of chrome in the plants and his toxic. *Pitannya bioindikatsii ta ekologii*. 2011;(16-2):35-52. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. Г. Ширеторова,
к.т.н., старший научный сотрудник,
Байкальский институт природопользования
СО РАН,
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6,
Российская Федерация,

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Valentina G. Shiretorova,
Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sakhyanova St., Ulan-Ude, 670047,
Russian Federation,
vgshiretorova@mail.ru

vgshiretorova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3528-5101>

С. А. Эрдынеева,
научный сотрудник,
Байкальский институт природопользования
СО РАН,
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6,
Российская Федерация;
ассистент,
Бурятский государственный университет,
670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а,
Российская Федерация,
esssa198013@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4330-5723>

Л. Д. Раднаева,
д.х.н., главный научный сотрудник,
Байкальский институт природопользования
СО РАН,
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6,
Российская Федерация;
заведующий кафедрой фармации,
Бурятский государственный университет,
670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а,
Российская Федерация,
radld@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2886-1075>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 24.10.2022.
Одобрена после рецензирования 16.11.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.*

<https://orcid.org/0000-0002-3528-5101>

Svetlana A. Erdynееva,
Researcher,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sakhyanova St., Ulan-Ude, 670047,
Russian Federation;
Assistant,
Buryat State University,
24 a, Smolin St., Ulan-Ude, 670000,
Russian Federation,
esssa198013@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4330-5723>

Larisa D. Radnaeva,
Dr. Sci. (Chemistry), Chief Researcher,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sakhyanova St., Ulan-Ude, 670047,
Russian Federation;
Head of the Department of Pharmacy,
Buryat State University,
24 a, Smolin St., Ulan-Ude, 670000,
Russian Federation,
radld@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2886-1075>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.*

Information about the article

*The article was submitted 24.10.2022.
Approved after reviewing 16.11.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.*

ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 662.7

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-612-619>



Влияние физико-химических свойств депрессорных присадок на их эффективность в дизельных топливах

Николай Семенович Яковлев, Славик Гамид оглы Агаев

Тюменский индустриальный университет, г. Тюмень, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Яковлев Николай Семенович, jakovlevns@tyuiu.ru

Аннотация. Работа посвящена исследованию влияния физико-химических свойств депрессорных присадок на их эффективность в дизельных топливах различного химического и фракционного состава. Использовано дизельное топливо утяжеленного фракционного состава, летнее и судовое дизельные топлива. Определены физико-химические свойства топлив: температура помутнения, температура застывания, плотность, вязкость, фракционный состав и содержание углеводородов, образовавших комплекс с карбамидом. Установлено содержание и молекулярно-массовое распределение индивидуальных *n*-алканов в дизельных топливах. Использованы зарубежные депрессорно-диспергирующие присадки: Dodiflow с шифрами 4971, 5416, 5817 и 7118, Keroflux с шифрами 3501, 5696а и Ofi-8863. Из товарной формы присадок методом диализа через полупроницаемые резиновые мембраны выделены их активные начала. Определены температура каплепадения активного начала присадок, их характеристическая вязкость в керосине и показатель преломления при 100 °С. По данным инфракрасной спектроскопии активного начала присадок определено содержание звеньев винилацетата и разветвленность алифатических радикалов депрессорных присадок. Установлена взаимосвязь между физико-химическими свойствами депрессорно-диспергирующих присадок и их эффективностью в дизельных топливах. Наибольшей эффективностью в топливах обладают присадки с относительно высокой температурой плавления, со средней характеристической вязкостью и низкой разветвленностью алифатических звеньев в структуре полимеров. Расход присадок для получения максимальной депрессии температуры застывания снижается с переходом от летнего к судовому топливу и далее к дизельному топливу утяжеленного фракционного состава. Для прогнозирования эффективности депрессорных присадок предложена комплексная величина $t_{\text{кп}}/C_{\text{ВА}}$, представляющая собой соотношение их температур каплепадения $t_{\text{кп}}$ и содержания в присадках звеньев винилацетата $C_{\text{ВА}}$. В области значений $t_{\text{кп}}/C_{\text{ВА}}$ 3,02–4,00 присадки по их депрессорным свойствам являются универсальными. Установлена корреляция между показателем преломления n_{100}^D присадок и комплексной величиной $t_{\text{кп}}/C_{\text{ВА}}$ ($R^2 = 0,975$).

Ключевые слова: депрессорно-диспергирующие присадки, дизельные топлива, диализ присадок, нефтепродукты, ИК-спектроскопия, характеристическая вязкость

Благодарности. Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Центр перспективных исследований и инновационных разработок» Тюменского индустриального университета.

Для цитирования: Яковлев Н. С., Агаев С. Г. Влияние физико-химических свойств депрессорных присадок на их эффективность в дизельных топливах // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 612–619. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-612-619>.

CHEMICAL TECHNOLOGY

Original article

Influence of physicochemical properties of depressor additives on their performance in diesel fuels

Nikolay S. Yakovlev, Slavik G. Agaev

Tyumen industrial university, Tyumen, Russian Federation

Corresponding author: Nikolay S. Yakovlev, jakovlevns@tyuiu.ru

Abstract. The work investigates the influence of the physicochemical properties of depressor additives on their performance in diesel fuels of various chemical and fractional compositions. Heavy, summer and marine

diesel fuels were used. The following physicochemical properties of fuels were determined: cloud point, freezing point, density, viscosity, fraction composition and hydrocarbon content that formed a complex with carbamide. The content and molar mass distribution of individual *n*-alkanes in diesel fuels were determined. The following foreign depressant-dispersing additives were used: Dodiflow with codes 4971, 5416, 5817 and 7118, Keroflux with codes 3501, 5696a and Ofi-8863. Their active agents were isolated from the commercial additives by dialysis using semi-permeable rubber membranes. The dropping point of the active agents, their intrinsic viscosity in kerosene and the refractive index at 100 °C were identified. The content of vinyl acetate components and the degree of branching of aliphatic radicals of depressor additives were determined using infrared spectroscopy of the active agents. The relationship between the physicochemical properties of depressor-dispersing additives and their performance in diesel fuels was established. Additives characterised by a relatively high melting point, an average intrinsic viscosity and low branching of aliphatic compounds in the polymer structure exhibit the best performance in fuels. The consumption of additives to achieve the maximum depression of freezing point decreases with the transition from summer to marine fuel and further to heavy diesel fuel. A complex $t_{\text{кп}}/C_{\text{BA}}$ value, comprising the ratio of the dropping points $t_{\text{кп}}$ and the content of vinyl acetate components in the additives, was proposed as a means of predicting the efficiency of depressant additives C_{BA} . In the range of $t_{\text{кп}}/C_{\text{BA}}$ values of 3.02–4.00 the additives have universal depressant properties. A correlation was established between the refractive index n_{100}^D of additives and the complex value $t_{\text{кп}}/C_{\text{BA}}$ ($R^2 = 0.975$).

Keywords: depressor-dispersing additives, diesel fuels, dialysis of additives, petroleum products, IR spectroscopy, intrinsic viscosity

Acknowledgements. The study was carried out using the equipment of the Center for Advanced Research and Innovative Developments of the Tyumen Industrial University.

For citation: Yakovlev N. S., Agaev S. G. Influence of physicochemical properties of depressor additives on their performance in diesel fuels. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):612-619. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-612-619>.

ВВЕДЕНИЕ

Использование депрессорных присадок (ДП) в дизельных топливах (ДТ) является одним из наиболее экономически целесообразных методов улучшения их низкотемпературных свойств [1–6]. Депрессорные присадки повышают такие показатели качества ДТ, как текучесть (температура застывания), температура помутнения и предельная температура фильтруемости (ПТФ). Депрессорные присадки должны также предотвращать коагуляцию и седиментацию кристаллизующихся парафиновых углеводородов [7]. Эффективность депрессорных присадок определяется их химическим строением [2, 8, 9], а также физико-химическими свойствами ДТ [1, 3, 10, 11]. Считается, что для понижения температуры застывания ДТ наиболее эффективны депрессорные присадки на основе полиакрилатов, поливинилацетатов и их сополимеров [2, 8, 9]. Азотсодержащие депрессорные присадки более эффективны при снижении предельной температуры фильтруемости и температуры помутнения (начала кристаллизации) ДТ [11–13]. Эффективность депрессорных присадок для снижения температуры застывания определяется содержанием и молекулярно-массовым распределением *n*-алканов в ДТ [1, 10, 14], содержанием в ДТ ароматических углеводородов [6], а также температурами начала помутнения парафиновых углеводородов и температурами помутнения депрессорных присадок в ДТ [1, 3, 6, 11]. Высокую эффективность ДП в ДТ достигают оптимизацией молекулярной массы присадок и оптимизацией гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) полярных и углеводородных структур присадок [2, 3, 11, 12].

ГЛБ и молекулярная масса присадок определяют их температуру плавления и температуру помутнения в ДТ. Следовательно, температура плавления является комплексной характеристикой депрессорных присадок и косвенно учитывает их молекулярную массу, природу и содержание в них полярной части [11–13]. Полярная часть присадок определяет их межмолекулярные взаимодействия с *n*-алканами с образованием ассоциированных комплексов в предкристаллизационной области ДТ и в процессе формирования структуры и формы кристаллов парафина [4, 9–12].

Целью работы является исследование влияния физико-химических свойств депрессорных присадок на их эффективность в ДТ.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследование эффективности депрессорных присадок проводили на ДТ утяжеленного фракционного состава, летнем и судовом ДТ (табл. 1). Молекулярно-массовое распределение индивидуальных *n*-алканов в ДТ определяли на хроматографе Кристалл-5000 (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия). По данным хроматографии *n*-алканы распределены на низкоплавкие (ΣC_{12-14}), среднеплавкие (ΣC_{15-18}) и высокоплавкие (ΣC_{19+}) (см. табл. 1). Температуру застывания ДТ определяли по ГОСТ 20287-91, температуру их помутнения – по ГОСТ 5066-2018.

Содержание углеводородов, образовавших комплекс с карбамидом, определяли известным способом [15]. Другие показатели ДТ приняты по производственным данным. Использованы зарубежные депрессорно-диспергирующие присадки: Dodiflow с шифрами 4971, 5416, 5817 и 7118,

Таблица 1. Физико-химические свойства дизельных топлив
Table 1. Physical and chemical properties of diesel fuels

Показатели		Значения показателей дизельных топлив		
		летнее	судовое	утяжеленного фракционного состава
Температура помутнения, °С		-4,0	+2,0	+6,0
Температура застывания, °С		-13,0	-5,0	0
Плотность при 20 °С, кг/м ³		826,0	844,0	853,0
Вязкость при 20 °С, мм ² /с		4,7	6,9	9,3
Фракционный состав, об. %		Выкипает при температуре, °С		
10		184,0	187,0	291,0
50		270,0	285,0	335,0
90		360,0	366,0	375,0
96		381,0	394,0	383,0
Содержание фракций <i>n</i> -алканов в дизельных топливах от общей суммы в топливе, масс. %	ΣC_{12-14}	47,9	23,3	1,1
	ΣC_{15-18}	31,3	37,1	20,6
	ΣC_{19+}	20,8	39,6	78,3
Содержание углеводородов, образовавших комплекс с карбамидом, масс. %		20,8	21,0	32,8
Средняя температура плавления <i>n</i> -алканов дизельных топлив по данным хроматографии, °С		2,3	25,0	36,1
Температура вспышки в закрытом тигле, °С		62,0	66,0	–
Массовая доля серы, %		0,2	0,4	–

Keroflux с шифрами 3501, 5696a и Ofi-8863^{1,2} [16]. Выбор присадок обусловлен их применением на нефтеперерабатывающих заводах, где были отобраны исследуемые топливные фракции. Товарные формы присадок представляют собой активное начало присадок в углеводородных растворителях. Активное начало присадок из их товарной формы выделяли методом диализа через полупроницаемые резиновые мембраны [17]. Диализ присадок проводился с использо-

ванием в качестве растворителя *n*-гексана с получением концентрата (активное начало присадок) и диализата.

По результатам диализа определяли содержание активного начала присадок в товарной форме (табл. 2).

Определены следующие физико-химические свойства активного начала присадок: температура каплепадения $t_{кл}$ по Уббелюде (ГОСТ 6793-74), характеристическая вязкость, показатель пре-

Таблица 2. Физико-химические свойства активного начала депрессорных присадок
Table 2. Physical and chemical properties of the active principle of pour point depressants

Показатели	Dodiflow и их шифры				Keroflux и их шифры		Ofi 8863
	4971	5416	5817	7118	3501	5696a	
$\eta_{уд}/C, *10^2$	5,78	8,76	6,89	5,41	3,29	8,41	5,47
$t_{кл}, ^\circ C$	27,5	69	64	64	44	47	56
$C_{BA}, \% \text{ масс.}$	17,4	14,7	21,2	16,0	19,5	19,8	28,3
$t_{кл}/C_{BA}$	1,58	4,69	3,02	4,00	2,26	2,37	1,98
n_{100}^D	1,443	1,468	1,457	1,462	1,446	1,448	1,444
$C_{ак}^{ДП}, \% \text{ масс.}$	16	26	36	33	23	19	35

Примечание. C_{BA} – содержание звеньев винилацетата в присадках; n_{100}^D – показатель преломления присадок при 100 °С; $C_{ак}^{ДП}$ – содержание активного начала в присадках, % масс.; $\eta_{уд}/C, *10^2$ – характеристическая вязкость присадок; $t_{кл}$ – температура каплепадения присадок.

¹Refinery Additives for Middle Distillates // BASF [Электронный ресурс]. URL: <https://automotive-transportation.basf.com/global/en/fuel-and-lubricants/fuel-and-lubricant-solutions/refinery-additives-for-middle-distillates.html> (26.08.2022).

²Присадка для дизтоплива OFI // Справочно-информационная система «Роспроизводитель» [Электронный ресурс]. URL: <http://rosproizvoditel.ru/goods/2794-prisadka-dlya-diztoplivo-ofi-76507660-depressornaya> (26.08.2022).

ломления при 100 °C n_{100}^D (рефрактометр Аббе NAR-2T, Япония). ИК-спектры активного начала присадок сняты на ИК-Фурье спектрометре Nicolet 380 (Thermo Electron Corporation, США) (табл. 3).

Характеристическую вязкость присадок $\eta_{уд}/C$ определяли в растворе керосина марки РТ на автоматическом вискозиметре (AND Vibroviskometer SV-10, Япония). Характеристическая вязкость присадок позволяла оценить относительную среднюю молярную массу активного начала присадок: большому значению вязкости соответствует большая молярная масса (см. табл. 2) [18].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Физико-химические показатели ДТ изменяются в широких пределах. Содержание и молекулярно-массовое распределение *n*-алканов в ДТ отражается на их температуре застывания и помутнения (см. табл. 1). Физико-химические показатели депрессорных присадок также изменяются в широких пределах (см. табл. 2). Характеристические полосы поглощения в инфракрасной спектроскопии (ИКС) для концентратов в основном подтверждают данные производителей по химическому строению присадок. Данные ИКС использованы для расчета относительных интенсивностей β_i^A функциональных групп [19, 20] (см. табл. 3). По данным ИКС определено содержание звеньев винилацетата C_{BA} . Содержание звеньев винилацетата изменяется в пределах (см. табл. 2) от 14,7 (Dodiflow-5416) до 28,3 (Ofi-8863). Все присадки являются сополимерами этилена и винилацетата. В ИК-спектре присадки Keroflux-3501 присутствуют слабые полосы поглощения 1645 и 1548 cm^{-1} , подтверждающие данные производителя о присутствии в присадке амидных групп^{1,2}. В другой присадке этой фирмы Keroflux-5696a вопреки утверждениям производителя такие полосы поглощения не обнаружены. Это может быть связано с неселективным диализом присадок и потерей азотсодержащих компонентов присадки с диализатом. Установлена корреляционная зависимость между показателем преломления при

100 °C n_{100}^D концентрата присадок и комплексной величиной $t_{кл}/C_{BA}$, выраженной отношением температуры каплепадения $t_{кл}$ концентрата присадок и содержанием звеньев винилацетата (C_{BA}) в нем (рис. 1). Для характеристики разветвленности алифатических звеньев в структуре присадок использована относительная интенсивность характеристических полос поглощения в ИКС активного начала депрессорных присадок β_{1461}^{1372} [16, 19, 20] (см. табл. 3).

Эффективность депрессорных присадок оценивали по максимальной депрессии температур застывания Δt_3^{max} и помутнения Δt_n^{max} топлив, а также по расходу присадок при Δt_3^{max} и Δt_n^{max} (табл. 4). Чем выше значения Δt_3^{max} и Δt_n^{max} и чем меньше расход присадок, тем более эффективны присадки.

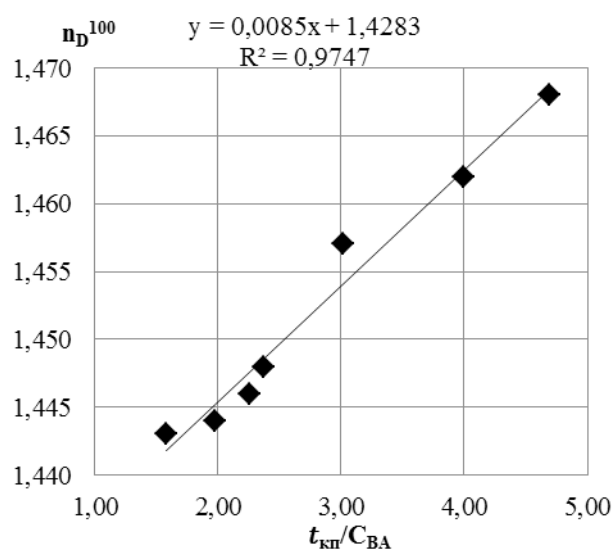


Рис. 1. Корреляционная зависимость показателя преломления при 100 °C n_{100}^D концентрата присадок (y) от комплексной величины $\frac{t_{кл}}{C_{BA}}$ (x)

Fig.1. Correlation dependence of the refractive index at 100 °C of the additive concentrate (y) n_{100}^D on the complex value $\frac{t_{кл}}{C_{BA}}$ (x)

Таблица 3. Относительная интенсивность β_i^A характеристических полос поглощения в ИК-спектроскопии активного начала депрессорных присадок

Table 3. Relative intensity β_i^A of the characteristic absorption bands in the IR spectroscopy of the active principle of the pour point depressants

функциональные группы β_i^A	Функциональные группы	β_i^{A*}	Dodiflow и их шифры				Keroflux и их шифры		OFI 8863
			4971	5416	5817	7118	3501	5696a	
ацетатные		β_{1461}^{1253}	2,78	2,99	2,56	2,20	3,00	2,74	3,81
		β_{1461}^{1730}	2,06	2,44	1,92	1,79	2,27	2,31	3,15
		β_{1372}^{1253}	2,92	2,89	2,86	2,67	2,95	3,06	3,32
		β_{1372}^{1730}	2,17	2,36	2,14	2,17	2,23	2,57	2,75
N-содержащие		β_{2850}^{1645}	—	—	—	—	0,27	—	—
алифатические		β_{1461}^{1372}	0,95	1,03	0,90	0,82	1,02	0,90	1,15

Примечание. * — отношение интенсивности полос поглощения функциональной группы относительно базовой полосы поглощения А.

Эффективность присадок определяется их структурой и физико-химическими свойствами, а также физико-химическими свойствами ДТ (см. табл. 1–4). В топливе утяжеленного фракционного состава наиболее эффективны присадки Dodiflow-5416, 5817 и 7118 (см. табл. 4). Все три присадки имеют высокую температуру каплепадения концентрата – 64–69 °С. Присадки характеризуются высокими значениями их характеристической вязкости (см. табл. 2). Алифатические звенья в структуре этих присадок по данным ИК-спектроскопии (см. табл. 3) имеют невысокую разветвленность. Высокую эффективность в топливе утяжеленного фракционного состава проявляет присадка Ofi-8863, отличающаяся от других присадок аномальными свойствами (см. табл. 2, 3). Другие присадки, характеризующиеся неблагоприятным сочетанием физико-химических показателей, менее эффективны в ДТ утяжеленного фракционного состава.

В летнем топливе наибольшая эффективность у присадок Dodiflow-5817 и 7118. Максимальная депрессия температуры застывания в их присутствии Δt_3^{max} более 32 °С (см. табл. 4). Другие присадки, характеризующиеся неблагоприятным сочетанием физико-химических показателей, менее эффектив-

ны в этом топливе. Присадка Ofi-8863 в летнем ДТ из-за ее высокой полярности (содержание винилацетатных звеньев в ее структуре 28,3 масс. %, см. табл. 2) может повышать температуру помутнения летнего ДТ при ее содержании 0,5–1,0% масс. с минус 4 до 1 °С (данные в табл. 4 не приводятся).

Максимальная депрессия температуры застывания в судовом ДТ (29–35 °С) наблюдается для присадок Dodiflow-5817 и 7118. Менее эффективны по депрессии температуры застывания другие присадки серии Dodiflow, присадка Ofi-8863 и присадки серии Keroflux. Однако эти присадки характеризуются относительно низким расходом для достижения максимальной депрессии температуры застывания. При приблизительно одинаковой депрессии температуры застывания ДТ в присутствии присадок серии Dodiflow расход присадок уменьшается с утяжелением топлива (см. табл. 4).

Депрессорно-диспергирующие присадки по их влиянию на температуру помутнения ДТ малоэффективны (см. табл. 4). Несколько более эффективны присадки в судовом топливе. При этом расход присадок (0,01–0,1 масс. %) самый низкий по сравнению с этими же присадками в 2-х других топливах. Делать выводы по снижению темпера-

Таблица 4. Влияние депрессорных присадок на температуру застывания и помутнения дизельных топлив
Table 4. The effect of pour point depressants on the pour point and cloud point of diesel fuel

ДТ	Показатели по Δt_3^{max} и Δt_n^{max} при $C_{дп}$, % масс.	Максимальная депрессия температуры застывания Δt_3^{max} и помутнения Δt_n^{max} дизельных топлив (°С) в присутствии присадок						
		Dodiflow 4971	Dodiflow 5416	Dodiflow 5817	Dodiflow 7118	Keroflux 3501	Keroflux 5696a	Ofi 8863
летнее	температура застывания (исходная -13 °С)							
	Δt_3^{max}	20	19	>32	>32	18	19	20
	$C_{дп}$, % масс.	0,5–1,0	0,5	1,0	1,0	0,1	0,1	0,1–0,5
	температура помутнения (исходная -4 °С)							
судовое	Δt_n^{max} , °С	0	0	2	1	0	1	1
	$C_{дп}$, % масс.	0,01–1,0	0,01–1,0	0,1	0,1	0,01–1,0	0,1	0,1
	температура застывания (исходная -5 °С)							
	Δt_3^{max}	19	21	29	35	23	26	22
уфс	$C_{дп}$, % масс.	0,25	0,05	0,5–1,0	0,25	0,1	0,05–0,1	0,1
	температура помутнения (исходная 2 °С)							
	Δt_n^{max} , °С	0,5	1	2	2	2	1	2
	$C_{дп}$, % масс.	0,01	0,05	0,05	0,05	0,01	0,01	0,1
уфс	температура застывания (исходная 0 °С)							
	Δt_3^{max}	23	31	32	35	22	12–13	31
	$C_{дп}$, % масс.	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	0,05
	температура помутнения (исходная 6 °С)							
	Δt_n^{max} , °С	1	0	1	1	0	1	0
	$C_{дп}$, % масс.	0,1	0,01–1,0	0,5	1,0	0,01–1,0	0,5	0,01–1,0

Примечание. Обозначения: Δt_3^{max} и Δt_n^{max} – максимальная депрессия температуры застывания и помутнения соответственно; $C_{дп}$ – содержание присадки при Δt_3^{max} и Δt_n^{max} .

туры помутнения топлив в присутствии присадок не следует, поскольку обнаруженные эффекты незначительны.

Различия в эффективности депрессорных присадок и выделенных из них методом диализа [17] концентратов и диализатов показаны на примере присадки Keroflux-3501 в ДТ утяжеленного фракционного состава (рис. 2).

Максимальная депрессия температуры застывания в ДТ в присутствии концентрата присадки обнаруживается при более низком его содержании по сравнению с присадкой. Некоторым депрессорным действием обладает и диализат этой присадки. Разделение присадок происходит по молекулярной массе компонентов. Различий в действии присадки и ее компонентов на температуру помутнения не обнаружено. Преимуществом выделения активного начала методом диализа [17] перед отгонкой растворителя из товарной формы присадок [16, 20] является использование низких температур, которые исключают полимеризацию компонентов, входящих в состав присадок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые для выделения активного начала депрессорных присадок из их товарной формы использован диализ через резиновые полупроницаемые мембраны. Наибольшей эффективностью в топливах обладают присадки с относительно высокой температурой плавления, со средней характеристической вязкостью и низкой разветвленностью алифатических звеньев в структуре полимеров. Расход присадок для получения максимальной депрессии температуры застывания снижается с переходом от летнего к судовому и далее к ДТ утяжеленного фракционного состава. Для прогнозирования эффективности депрессорных присадок

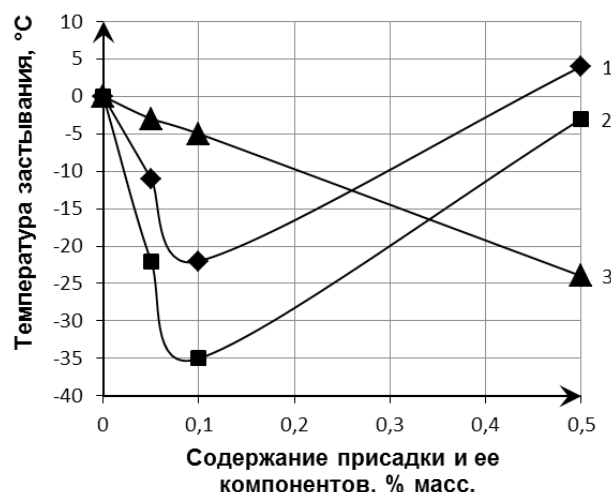


Рис. 2. Зависимость температуры застывания дизельного топлива утяжеленного фракционного состава от содержания присадки Keroflux-3501 и ее компонентов: 1 – присадка; 2 – концентрат; 3 – диализат

Fig. 2. Relationship between the pour point of heavy fractional diesel fuel and the content of Keroflux-3501 additive and its components: 1 – additive; 2 – concentrate; 3 – dialysate

предложена комплексная величина $t_{\text{кп}}/C_{\text{БА}}$, характеризующаяся соотношением их температуры каплепадения и содержания в присадках звеньев винилацетата $C_{\text{БА}}$. В области значений $t_{\text{кп}}/C_{\text{БА}}$ 3,02–4,00 присадки по их депрессорным свойствам являются универсальными. Установлена корреляция между показателем преломления n_{D}^{20} присадок и комплексной величиной $t_{\text{кп}}/C_{\text{БА}}$.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Башкатова С. Т. Присадки к дизельным топливам: монография. М.: Химия, 1994. 256 с.
2. Feihe R., Yilin L., Bin S., Chenchen W., Jincan Ya., Hualin L., et al. Structure regulation and influence of comb copolymers as pour point depressants on low temperature fluidity of diesel fuel // *Energy*. 2022. Vol. 254. P. 124438. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2022.124438>.
3. Kurniawan M., Norrman J., Paso K. Pour point depressant efficacy as a function of paraffin chain-length // *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 2022. Vol. 212. P. 110250. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2022.110250>.
4. Kirgina M., Bogdanov I., Altynov A., Belinskaya N., Orlova A., Nikonova N. Studying the impact of different additives on the properties of straight-run diesel fuels with various hydrocarbon compositions // *Oil & Gas Science and Technology*. 2021. Vol. 76, no. 40. P. 1–13. <https://doi.org/10.1051/ogst/2021018>.
5. Kondrasheva N. K., Rudko V. A., Kondrashev D. O., Konoplin R. R., Smyshlyaeva K. I., Shakleina V. S. Functional influence of depressor and depressor-dispersant additives on marine fuels and their distillates components // *Petroleum Science and Technology*. 2018. Vol. 36, no. 24. P. 2099–2105. <https://doi.org/10.1080/10916466.2018.1533858>.
6. Han S., Zeng K., Shen S. D., Tan F. Z. Reaction of pore depressants and solvents // *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 2011. Vol. 46, no. 6. P. 378–384. <https://doi.org/10.1007/s10553-011-0238-7>.
7. Chen F. F., Liu J. B., Yang T. S., Yin S. Y., Su B. T., Xie M. Y., et al. Influence of maleic anhydride-co-methyl benzyl acrylate copolymers modified with long-chain fatty amine and long-chain fatty alcohol on the cold flow properties of diesel fuel // *Fuel*. 2020. Vol. 268. P. 117392. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117392>.
8. Li X., Yuan M., Xue Y., Lin H., Han Sh. Tetradecyl methacrylate-N-methylolacrylamide copolymer: a low concentration and high-efficiency pour point depressant for diesel // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2022. Vol. 642. P. 128672. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.128672>.
9. Hualin L., Suyu Y., Baoting S., Yuan X., Sheng H. Research on combined-pour point depressant of methacrylate-acrylamide copolymers and ethylene-vinyl acetate copolymers for diesel fuel // *Fuel*. 2020. Vol. 290. P. 120002. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.120002>.

10. Burov E. A., Ivanova L. V., Koshelev V. N., Sorokina A. S. Influence of group hydrocarbon composition of diesel fuels on depressant additive efficiency // *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 2020. Vol. 56, no. 2. P. 149–156. <https://doi.org/10.1007/s10553-020-01123-9>.
11. Агаев С. Г., Гуров Ю. П., Землянский Е. О. Фазовые переходы и структурообразование в модельных системах твердых углеводородов и депрессорных присадок // *Нефтепереработка и нефтехимия*. 2004. N 9. С. 37–40.
12. Агаев С. Г., Гребнев А. Н., Землянский Е. О. Ингибиторы парафиновых отложений бинарного действия // *Нефтепромысловое дело*. 2008. N 9. С. 46–52.
13. Yang T. S., Wu J. J., Yuan M. X., Li X., Yin S. Y., Su B. T., et al. Influence of polar groups on the depressive effects of polymethacrylate polymers as cold flow improvers for diesel fuel // *Fuel*. 2021. Vol. 290. P. 120035. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.120035>.
14. Cao J., Liua L., Liua Ch., Heab Ch. Phase transition mechanisms of paraffin in waxy crude oil in the absence and presence of pour point depressant // *Journal of Molecular Liquids*. 2022. Vol. 345. P. 116989. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116989>.
15. Ismailov A. G., Babaev I. D., Agaeva S. M., Abdullaev E. Sh., Shteinshnaider G. M., Akhundova M. M., et al. Increasing the yields of paraffins and winter-grade diesel fuel in urea dewaxing // *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 1980. Vol. 16, no. 5-6. P. 372–374. <https://doi.org/10.1007/BF00727152>.
16. Зинина Н. Д., Симанская К. Ю., Павловская М. В., Гришин Д. Ф. Депрессорно-диспергирующая присадка для гидроочищенного экологически чистого дизельного топлива // *Нефтепереработка и нефтехимия*. 2014. N 8. С. 37–40.
17. Klevtsov V. P., Fialko M. M., Gankina N. L., Rassadina N. F., Fridman R. M. Dialysis of additives in rubber membranes // *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 1973. Vol. 9, no. 4. P. 276–278. <https://doi.org/10.1007/bf00730417>.
18. Yigit Y., Kilislioglu A., Karakus S., Baydogan N. Determination of the intrinsic viscosity and molecular weight of poly(methyl methacrylate) blends // *Journal of Investigations on Engineering & Technology*. 2019. Vol. 2, no. 2. P. 34–39.
19. Stuart B. H. *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons, 2004. 224 p. <https://doi.org/10.1002/0470011149>.
20. Cristante M., Selves J.-L., Grassy G., Orrit J., Garland E. Choice of paraffin inhibitors for crude oils by principal component analysis // *Analytica Chimica Acta*. 1990. Vol. 229, no. 2. P. 267–276. [https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(00\)85138-7](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(00)85138-7).
- REFERENCES**
1. Bashkatova S. T. *Additives to diesel fuels: monograph*. Moscow: Khimiya; 1994, 256 p. (In Russian).
2. Feihe R., Yilin L., Bin S., Chenchen W., Jincan Ya., Hualin L., et al. Structure regulation and influence of comb copolymers as pour point depressants on low temperature fluidity of diesel fuel. *Energy*. 2022;254:124438. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2022.124438>.
3. Kurniawan M., Norrman J., Paso K. Pour point depressant efficacy as a function of paraffin chain-length. *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 2022;212:110250. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2022.110250>.
4. Kirgina M., Bogdanov I., Altynov A., Belinskaya N., Orlova A., Nikonova N. Studying the impact of different additives on the properties of straight-run diesel fuels with various hydrocarbon compositions. *Oil & Gas Science and Technology*. 2021;76(40):1-13. <https://doi.org/10.1051/ogst/2021018>.
5. Kondrasheva N. K., Rudko V. A., Kondrashev D. O., Konoplin R. R., Smyshlyaeva K. I., Shackleina V. S. Functional influence of depressor and depressor-dispersant additives on marine fuels and their distillates components. *Petroleum Science and Technology*. 2018;36(24):2099-2105. <https://doi.org/10.1080/10916466.2018.1533858>.
6. Han S., Zeng K., Shen S. D., Tan F. Z. Reaction of pore depressants and solvents. *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 2011;46(6):378-384. <https://doi.org/10.1007/s10553-011-0238-7>.
7. Chen F. F., Liu J. B., Yang T. S., Yin S. Y., Su B. T., Xie M. Y., et al. Influence of maleic anhydride-co-methyl benzyl acrylate copolymers modified with long-chain fatty amine and long-chain fatty alcohol on the cold flow properties of diesel fuel. *Fuel*. 2020;268:117392. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117392>.
8. Li X., Yuan M., Xue Y., Lin H., Han Sh. Tetradecyl methacrylate-N-methylolacrylamide copolymer: a low concentration and high-efficiency pour point depressant for diesel. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2022;642:128672. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.128672>.
9. Hualin L., Suya Y., Baoting S., Yuan X., Sheng H. Research on combined-pour point depressant of methacrylate-acrylamide copolymers and ethylene-vinyl acetate copolymers for diesel fuel. *Fuel*. 2020;290:120002. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.120002>.
10. Burov E. A., Ivanova L. V., Koshelev V. N., Sorokina A. S. Influence of group hydrocarbon composition of diesel fuels on depressant additive efficiency. *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 2020;56(2):149-156. <https://doi.org/10.1007/s10553-020-01123-9>.
11. Агаев С. Г., Гуров Ю. П., Землянский Е. О. Phase transitions and structure formation in model systems of solid hydrocarbons and pour point depressants. *Нефтепереработка и нефтехимия*. 2004;(9):37-40. (In Russian).
12. Агаев С. Г., Гребнев А. Н., Землянский Е. О. Binary wax inhibitors. *Нефтепромысловое дело = Oilfield Engineering*. 2008;(9):46-52. (In Russian).
13. Yang T. S., Wu J. J., Yuan M. X., Li X., Yin S. Y., Su B. T., et al. Influence of polar groups on the depressive effects of polymethacrylate polymers as cold flow improvers for diesel fuel. *Fuel*. 2021;290:120035. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.120035>.

14. Caoa J., Liua L., Liua Ch., Heab Ch. Phase transition mechanisms of paraffin in waxy crude oil in the absence and presence of pour point depressant. *Journal of Molecular Liquids*. 2022;345:116989. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116989>.

15. Ismailov A. G., Babaev I. D., Agaeva S. M., Abdullaev E. Sh., Shteinshnaider G. M., Akhundova M. M., et al. Increasing the yields of paraffins and winter-grade diesel fuel in urea dewaxing. *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 1980;16(5-6):372-374. <https://doi.org/10.1007/BF00727152>.

16. Zinina N. D., Simanskaya K. Yu., Pavlovskaya M. V., Grishin D. F. Depressor-dispersing additive for hydrocleared ecologically pure diesel fuel. *Neftepererabotka i neftekhimiya*. 2014;(8):37-40. (In Russian).

17. Klevtsov V. P., Fialko M. M., Gankina N. L.,

Rassadina N. F., Fridman R. M. Dialysis of additives in rubber membranes. *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 1973;9(4):276-278. <https://doi.org/10.1007/bf00730417>.

18. Yigit Y., Kilislioglu A., Karakus S., Baydogan N. Determination of the intrinsic viscosity and molecular weight of poly(methyl methacrylate) blends. *Journal of Investigations on Engineering & Technology*. 2019;2(2):34-39.

19. Stuart B. H. *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons; 2004, 224 p. <https://doi.org/10.1002/0470011149>.

20. Cristante M., Selves J.-L., Grassy G., Orrit J., Garland E. Choice of paraffin inhibitors for crude oils by principal component analysis. *Analytica Chimica Acta*. 1990;229(2):267-276. [https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(00\)85138-7](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(00)85138-7).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Н. С. Яковлев,

к.т.н., доцент,
Тюменский индустриальный университет,
625000, г. Тюмень, ул. Володарского, 38,
Российская Федерация,
jakovlevns@tyuiu.ru.
<https://orcid.org/0000-0003-1822-1795>

С. Г. Агаев,

д.т.н., профессор, главный научный сотрудник,
Тюменский индустриальный университет,
625000, г. Тюмень, ул. Володарского, 38,
Российская Федерация,
lagaslav13@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8671-6389>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nikolay S. Yakovlev,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Tyumen Industrial University,
38, Volodarsky St., 625000, Tyumen,
Russian Federation,
jakovlevns@tyuiu.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1822-1795>

Slavik G. Agaev,

Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Chief Researcher,
Tyumen Industrial University,
38, Volodarsky St., 625000, Tyumen,
Russian Federation,
lagaslav13@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8671-6389>

Вклад авторов

Н. С. Яковлев – выполнение экспериментальной работы;
С. Г. Агаев, Н. С. Яковлев – написание и подготовка рукописи к печати.

Contribution of the authors

N. S. Yakovlev – experiment execution;
S. G. Agaev, N. S. Yakovlev – writing and preparing the manuscript for publication.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict interests

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

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

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

Информация о статье

Поступила в редакцию 21.10.2022.
Одобрена после рецензирования 16.11.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.

Information about the article

The article was submitted 21.10.2022.
Approved after reviewing 16.11.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.



Особенности состава и содержания ауксинов в тканях яблони сибирской *Malus baccata* L. Borkh.

Александра Вячеславовна Столбикова, Любовь Виссарионовна Дударева,
Александр Викторович Рудиковский, Злата Олеговна Ставицкая,
Татьяна Васильевна Копытина, Елена Георгиевна Рудиковская

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,
г. Иркутск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Рудиковская Елена Георгиевна, rudal69@mail.ru

Аннотация. Как известно, самое высокое содержание ауксинов обнаруживается в областях активного деления клеток: в молодых листьях, апикальных меристемах, в камбии, в эмбрионах и эндосперме, а также в развивающихся плодах, что определяет среди прочего габитус растений и размер плодов. В агрокультуре и биотехнологии ауксины (индол-3-масляная (ИМК) и индол-3-уксусная кислоты (ИУК) используются для стимуляции образования боковых корней, в том числе подвоев яблони. Несмотря на важнейшую роль эндогенной ИМК в укоренении, ее наличие в тканях яблони до сих пор не было подтверждено, хотя ее содержание *in planta* показано для многих других растений. Поэтому целью представляемой работы был сравнительный анализ состава и содержания ауксинов в 2-х типах тканей яблони сибирской карликовой и высокорослой форм, а также выявление наличия в них ИМК. В качестве объекта исследования использовали ткани завязи и коры яблони сибирской (*Malus baccata* L. Borkh.) 2-х форм (карликовой и высокорослой), произрастающих на экспериментальном участке Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН. Образцы коры отбирали с побегов 1-го года на стадии интенсивного сокодвижения. Образцы завязи собирали в июле на стадии активного роста. Очистку ауксинов проводили методом твердофазной экстракции, анализировали методом ГХ-МС. Результаты проведенных исследований показали, что помимо ИУК-3, в быстрорастущих тканях яблони сибирской как в камбиальном слое однолетнего прироста во время интенсивного сокодвижения, так и в завязавшихся плодах на стадии активного роста содержались следующие ауксины: ИМК, индол-1-уксусная кислота, индол-3-карбоновая кислота, индол-3-пропионовая кислота. Как и в ряде других растений, содержание этих ауксинов было существенно ниже уровня эндогенной ИУК.

Ключевые слова: ауксины, индол-3-масляная кислота, *Malus baccata* L. Borkh.

Для цитирования: Столбикова А. В., Дударева Л. В., Рудиковский А. В., Ставицкая З. О., Копытина Т. В., Рудиковская Е. Г. Особенности состава и содержания ауксинов в тканях яблони сибирской *Malus baccata* L. Borkh. // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 620–626. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-620-626>.

BRIEF COMMUNICATION

Characteristics of composition and content of auxins in tissues of Siberian apple tree *Malus baccata* L. Borkh.

Alexandra V. Stolbikova, Lubov V. Dudareva, Alexandr V. Rudikovskii,
Zlata O. Stavitskaya, Tatiana V. Kopytina, Elena G. Rudikovskaya

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

Corresponding author: Elena G. Rudikovskaya, rudal69@mail.ru

Abstract. It is known that the highest content of auxins is found primarily in the areas of active mitosis, including young leaves, apical meristems, cambium, embryos and endosperm, as well as developing fruits, which determines, among other things, plant habitus and fruit size. In agriculture and biotechnology, auxins (indole-3-butyric acid (IBA) and indole-3-acetic acid (IAA) are used to stimulate lateral development, including in apple tree rootstocks. Despite the crucial role of endogenous IBA in rooting, its presence in apple tree tissues remains unconfirmed, although its content in *planta* was shown for many other plants. Therefore, in this work, the composition and content of auxins in 2 tissue types of Siberian apple tree of

low- and high-growing forms, along with the presence of IBA in them, was compared. Tissues of ovary and bark of Siberian apple tree (*Malus baccata* L. Borkh.) of 2 forms (low and tall) growing on an experimental plot of Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS were used in the study. Bark samples were collected from the 1st year shoots at the stage of intensive sap flow. The ovary samples were collected in July at the stage of active growth. Auxins purified by solid-phase extraction were analysed by GC-MS. In addition to IAA-3, the following auxins were found in fast-growing tissues of the Siberian apple tree both in the cambium layer of annual gain during intensive sap flow and set fruit during the active growth stage: IBA, indole-1-acetic acid, indole-3-carboxylic acid and indole-3-propionic acid. Similar to other plants, the content of these auxins was significantly lower than that of endogenous IAA.

Keywords: auxins, indole-3- butyric acid, *Malus baccata* L. Borkh.

For citation: Stolbikova A. V., Dudareva L. V., Rudikovskii A. V., Stavitskaya Z. O., Kopytina T. V., Rudikovskaya E. G. Characteristics of composition and content of auxins in tissues of Siberian apple tree *Malus baccata* L. Borkh. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):620-626. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-620-626>.

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, ауксины – один из пяти основных видов фитогормонов. Они являются производными индола и обычно синтезируются из аминокислоты триптофана. Будучи неотъемлемым компонентом всех растительных тканей, ауксины контролируют ростовые процессы, рост клеток растяжением, развитие сосудов, инициацию листьев и цветков, рост корней и формирование придаточных (боковых) корней [1, 2]. Самое высокое содержание ауксинов обнаруживается в областях активного деления клеток: в молодых листьях, апикальных меристемах, в камбии, в эмбрионах и эндосперме, а также в развивающихся плодах, что определяет среди прочего габитус растений и размер плодов [2–5]. Индол-3-уксусная кислота (ИУК) является самым распространенным природным ауксином. Помимо породных стимуляторов, в настоящее время синтезирован ряд искусственных стимуляторов роста, например, нафтилуксусная кислота. В агрокультуре и биотехнологии ауксины служат индуктором укоренения, в том числе для стимуляции образования боковых корней [1, 2, 6, 7].

Яблоня – одно из растений, укоренение которого является сложной задачей. Поэтому добавление различных комбинаций ауксинов в почву и почвенные субстраты активно используется для корнеобразования при вегетативном размножении яблочных подвоев [1, 6]. В качестве первого подобного стимулятора была использована ИУК [8]. Тогда же было обнаружено, что синтетический ауксин – индол-3-масляная кислота (ИМК) – тоже способствовал укоренению, а в некоторых случаях был более эффективным, чем ИУК [9]. С этого момента ИМК активно использовалась для успешного клонирования растений. Были разработаны оптимальные условия укоренения с помощью ИМК для многих видов растений [7, 10]. Более высокая эффективность ИМК в отношении формирования придаточных корней по сравнению с ИУК объяснялась ее большей стабильностью как в растворе, так и *in vivo* [11]. К настоящему времени показано, что стимулирующее действие ИМК частично осуществляется через ее влияние на содержание ИУК: это непосредственный биосинтез ИУК из ИМК [12]; обнаруженное увеличение эндогенного содержания

ИУК после обработки экзогенной ИМК [13, 14] и т. д. Различия в способности к корнеобразованию у разных растений также объясняли различиями в метаболизме ауксинов [13, 15]. Например, у трудно укореняющихся сортов *Prunus avium* происходила конъюгация ИМК с аминокислотами и глюкозой, а гидролиз этих конъюгатов был затруднен в сравнении с сортами, легко образующими боковые корни [15].

Основные пути биосинтеза ИУК у растений, в том числе у яблони, довольно хорошо изучены [3, 4]. По эндогенному содержанию прекурсоров прослежен основной путь биосинтеза ауксинов, начиная с триптофана [16]. Показана ключевая роль в этом процессе флавин-зависимых монооксигеназ YUC [17]. Но, несмотря на важнейшую роль эндогенной ИМК в укоренении, наличие этого ауксина в тканях яблони до сих пор не было подтверждено, хотя ее содержание *in planta* показано для многих других растений.

Поэтому целью представляемой работы был сравнительный анализ состава и содержания ауксинов в 2-х типах тканей яблони сибирской карликовой и высокорослой форм и выявление наличия в них ИМК.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объекта исследования использовали ткани завязи и коры яблони сибирской (*Malus baccata* L. Borkh.) 2-х форм (карликовой и высокорослой) [18], произрастающих на экспериментальном участке Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (52°16' с. ш., 104°17' в. д.). Образцы коры отбирали с побегов 1-го года на стадии интенсивного сокодвижения. Отделяли камбиальный (зеленый) слой с флоэмной частью без первичной коры и древесины. Образцы завязи собирали в июле на стадии активного роста. Весь собранный материал фиксировали жидким азотом и хранили до анализа при температуре минус 70 °С.

Экстракция фитогормонов. Растительный материал (1 г) гомогенизировали в жидком азоте. В качестве внутреннего стандарта использовали 4-метоксibenзойную кислоту (Fluka, США). Экстракцию фитогормонов [19] проводили 80%-м метанолом (в качестве антиоксиданта использовали диэтилтиокарбонат натрия) в течение

10 мин в ультразвуковой бане при температуре 4 °С. Центрифугировали (центрифуга Allegra 64R, Beckman Coulter, США) 20 мин при 20000 g и температуре 4 °С. Супернатант подкисляли муравьиной кислотой (до концентрации 0,5 %). Далее очищали образец от пигментов с использованием картриджей для твердофазной экстракции Ser-Pak C₁₈ (Waters Associates, Ирландия). Метанол выпаривали на ротаторном испарителе при 30 °С, затем объем пробы доводили до 5 мл деионизованной водой, подкисляли муравьиной кислотой (0,5 %) и наносили на патрон Oasis Max (Waters Associates, Ирландия). Патрон последовательно промывали 5 %-м NH₄OH и 100 %-м метанолом. Пробу смывали 2 %-й муравьиной кислотой в метаноле, выпаривали на ротаторном испарителе досуха и получали триметилсилильные производные, нагревая 30 мин при температуре 70 °С с N, O-бис (триметилсилил) трифторацетамид (BSTFA, Sigma, США). В качестве стандартных образцов использованы 4-метоксибензойная кислота (внутренний стандарт); индол-1-уксусная кислота (ИУК-1); индол-3-уксусная кислота (ИУК-3); индол-3-карбоновая кислота (ИКК); индол-3-пропионовая кислота (ИПК); индол-3-масляная кислота (ИМК) (Sigma, США).

Хромато-масс-спектрометрия. Анализ подготовленных образцов проводили методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973N/6890N MSD/DS (Agilent Technologies, США). Объем вводимой пробы составил 2 мкл, температура испарителя – 250 °С, источника ионов – 230 °С, детектора – 150 °С, линии, соединяющей хроматограф с масс-спектрометром, – 280 °С. Диапазон сканирования – 41–450 а. е. м. Капиллярная колонка HP-5MS (30 м × 0,250 мм × 0,50 мкм), неподвижная фаза – 5 %-й фенил-метилполисилоксан, градиент температуры – от 70 до 280 °С со скоростью 5 °С/мин, затем – от 280 до 300 °С со скоростью 20 °С/мин. Подвижная фаза – гелий, скорость потока газа 1 мл/мин. Разделение потоков 5:1. Масс-спектрометр – квадруполь, способ ионизации – электронный удар (EI) (энергия ионизации – 70 эВ). Анализ проводили в режиме поиска отдельных ионов (SIM). Характерные ионы 4-метоксибензойной кислоты и TMS-производных: 4-метоксибензойная кислота (внутренний стандарт) – 267, 223, 193, 282, 268; ИУК-1 – 130, 248, 232, 247; ИУК-3 – 202, 319, 129, 304, 203; ИКК – 246, 305, 290, 216; ИПК – 202, 333, 203, 215; ИМК – 202, 347, 215, 130, 203. Для идентификации фитогормонов использовали сравнение времени их удерживания со временем удерживания стандартов, а также библиотеки масс-спектров NIST05 и WILEY7.

Обработку полученных результатов проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа One Way ANOVA в программе SigmaPlot 12.5. Результаты представлены в виде boxplot-диаграммы с медианными значениями концентрации фитогормона (нг/г сухой массы), с 25 и 75 %-ми квартилями, max и min значениями параметра. Достоверность различий сравниваемых значений оценивали с помощью метода Стьюдента–Ньюмана–Кейлса (P<0,05).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты проведенных исследований показали, что, помимо ИУК-3, в тканях яблони сибирской содержались следующие ауксины: индол-3-масляная кислота, индол-1-уксусная кислота, индол-3-карбоновая кислота, индол-3-пропионовая кислота.

Как видно из рис. 1, ауксином в коре обеих форм яблони являлась ИУК-3, содержание кото-

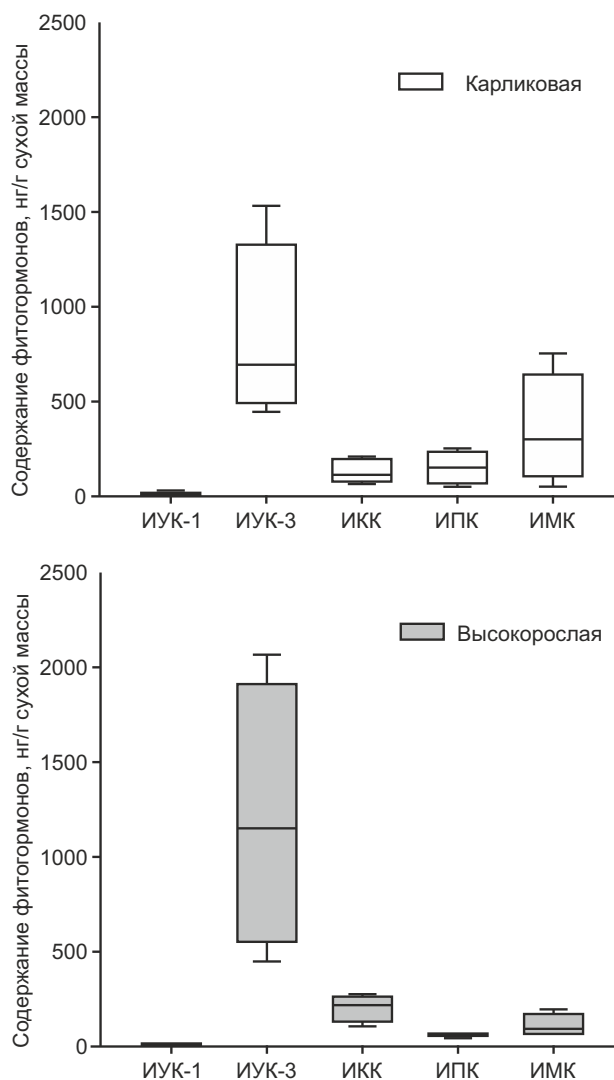


Рис. 1. Содержание (нг/г сухой массы) эндогенных ауксинов в коре карликовой и высокорослой *Malus baccata* L. Borkh.

(ИУК-1 – индол-1-уксусная кислота, ИУК-3 – индол-3-уксусная кислота, ИКК – индол-3-карбоновая кислота, ИПК – индол-3-пропионовая кислота, ИМК – индол-3-бутановая (масляная) кислота; n=4)

Fig. 1. Content (ng/g of dry mass) of endogenous auxins in the bark of dwarf and tall *Malus baccata* L. Borkh.

(ИУК-1 – indole-1-acetic acid, ИУК-3 – indole-3-acetic acid, ИКК – indole-3-carboxylic acid, ИПК – indole-3-propionic acid, ИМК – indole-3-butyric (butyric) acid; n=4)

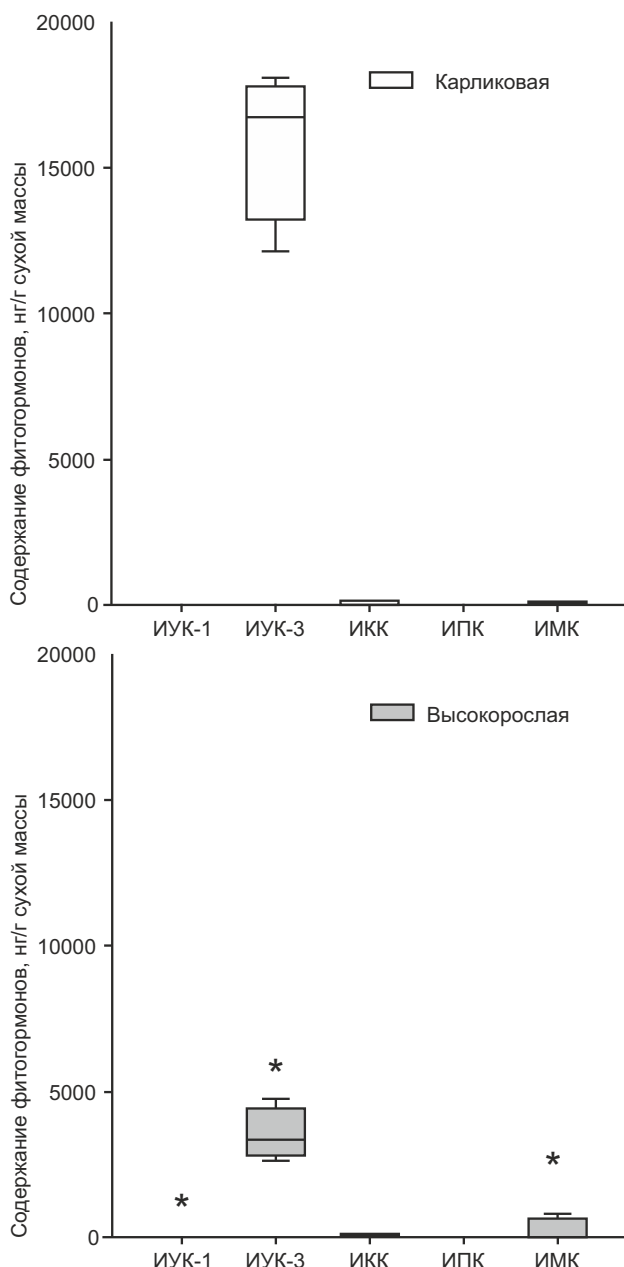


Рис. 2. Содержание (нг/г сухой массы) эндогенных ауксинов в завязи карликовой и высокорослой *Malus baccata* L. Borkh. (ИУК-1 – индол-1-уксусная кислота, ИУК-3 – индол-3-уксусная кислота, ИКК – индол-3-карбоновая кислота, ИПК – индол-3-пропионовая кислота, ИМК – индол-3-бутановая (масляная) кислота.
 * – достоверность различий сравниваемых значений рассчитана с помощью метода Стьюдента–Ньюмана–Кейлса, $P < 0,05$, $n = 4$)

Fig. 2. Content (ng/g of dry mass) of endogenous auxins in the ovary of dwarf and tall *Malus baccata* L. Borkh. (ИУК-1 – indole-1-acetic acid, ИУК-3 – indole-3-acetic acid, ИКК – indole-3-carboxylic acid, ИПК – indole-3-propionic acid, ИМК – indole-3-butyric acid.
 * – reliability of differences between compared values is calculated using the Student–Newman–Keuls method, $P < 0,05$, $n = 4$)

рой у высокорослой яблони составляло 695,9 нг/г сухой массы (медианное значение), а у карликовой яблони – 1147,4 нг/г сухой массы (медианное значение). ИУК-1 в тканях коры обеих форм яблони было около 23 нг/г сухой массы. Содержание ИКК, ИПК в коре карликовой яблони составляло 215,0 и 55,9 нг/г соответственно, в коре высокорослой яблони – 112,8 и 156,9 нг/г сухой массы (медианное значение) соответственно. Особый интерес представляет факт обнаружения в тканях коры обеих форм ИМК, причем в коре карликовой формы этого ауксина было заметно меньше, чем в коре высокорослой: 86,9 и 301,2 нг/г сухой массы (медианное значение) соответственно. Как уже указывалось выше, ранее у растений рода *Malus* не было показано наличие этого соединения.

В результате анализа количественного и качественного состава ауксинов в тканях завязи 2-х форм яблони сибирской (рис. 2) было установлено, что, как и в тканях коры этих 2-х форм, основным ауксином является ИУК. Его содержание в этих органах значительно отличалось: в высокорослой оно составляло 16719,0 нг/г сухой массы (медианное значение), а в карликовой – 3357,0 нг/г сухой массы (медианное значение). ИМК в этих тканях также была обнаружена, и ее содержание составляло 52,1 нг/г сухой массы (медианное значение) в высокорослых и 73,1 нг/г сухой массы (медианное значение) у карликов, что сравнимо с соответствующим показателем для камбиальных слоев коры соответствующих генотипов. Известно, что в развивающихся семенах происходит активный синтез ауксинов [5]. Поэтому возможно, что сравнительно низкое содержание ауксинов в плодах карликовой формы яблони сибирской связано с меньшим количеством семян, характерным для карликового статуса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенными исследованиями впервые обнаружено присутствие ИМК в быстрорастущих тканях яблони сибирской как в камбиальном слое однолетнего прироста во время интенсивного сокодвижения, так и в завязавшихся плодах на стадии активного роста. Как и в ряде других растений, ее содержание было существенно ниже уровня эндогенной ИУК [5]. Интересно отметить, что в немногочисленных работах, посвященных способам укоренения яблони сибирской, показано, что индукция образования боковых корней в черенках возможна и без добавления ИМК. Например, в работе [20] была использована нафтилуксусная кислота. В исследовании [22] применяли ИМК, но ее концентрация была на порядок меньше, чем обычно используют для укоренения яблони домашней [6]. Можно предположить, что меньшая чувствительность образования боковых корней к добавлению экзогенной ИМК у черенков яблони сибирской объясняется наличием эндогенной ИМК в ее тканях.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Pop T. I., Pamfil D. C., Bellini C. Auxin control in the formation of adventitious roots // *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2011. Vol. 39, no. 1. P. 307–316. <https://doi.org/10.15835/nbha3916101> 2011.
2. Новикова Г. В., Носов А. В., Степанченко Н. С., Фоменков А. А., Мамаева А. С., Мошков И. Е. Пролиферация клеток растений и ее регуляторы // *Физиология растений*. 2013. Т. 60. N 4. С. 529–536. <https://doi.org/10.7868/S0015330313040118>.
3. Song C., Zhang D., Zhang J., Zheng L., Zhao C., Ma J., et al. Expression analysis of key auxin synthesis, transport, and metabolism genes in different young dwarfing apple trees // *Acta Physiologiae Plantarum*. 2016. Vol. 38. <http://doi.org/10.1007/s11738-016-2065-2>.
4. Bu H., Yu W., Yuan H., Yue P., Wei Y., Wang A. Endogenous auxin content contributes to larger size of apple fruit // *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 11. P. 592540. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.592540>.
5. Su Y., He H., Wang P., Ma Z., Mao J., Chen B. Genome-wide characterization and expression analyses of the auxin/indole-3-acetic acid (Aux/IAA) gene family in apple (*Malus domestica*) // *Gene*. 2021. Vol. 768. P. 145302. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145302>.
6. Singh K. K., Chauhan J. S., Kumar P., Rawat J. M. S., Suwalk R. L. Effect of auxins, rooting media and vegetative propagation methods of apple (*Malus* spp.) // *European Journal of Biotechnology and Bioscience*. 2019. Vol. 7, no. 2. P. 82–88.
7. Bai T., Dong Z., Xianbo Z. X., Song S., Jiao J., Wang M., et al. Auxin and its interaction with ethylene control adventitious root formation and development in apple rootstock // *Frontiers Plant Science*. 2020. Vol. 11. P. 574881. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.574881>.
8. Cooper W. C. Hormones in relation to root formation on stem cuttings // *Plant Physiology*. 1935. Vol. 10. P. 789–794. <https://doi.org/10.1104/pp.10.4.789>.
9. Zimmerman P. W., Wilcoxon F. Several chemical growth substances which cause initiation of roots and other responses in plants // *Contributions from Boyce Thompson Institute*. 1935. Vol. 7. P. 209–229.
10. Mao J.-P., Zhang D., Zhang X., Li K., Liu Z., Meng Y., et al. Effect of exogenous indole-3-butyric acid (IBA) application on the morphology, hormone status, and gene expression of developing lateral roots in *Malus hupehensis* // *Scientia Horticulturae*. 2018. Vol. 232. P. 112–120. <https://doi.org/10.1016/J.SCIEN-TA.2017.12.013>.
11. Harbage J., Stimart D. P. Effect of pH and 1H-indole-3-butyric acid (IBA) on rooting of apple microcuttings // *American Society for Horticultural Science*. 1996. Vol. 121, no. 6. P. 1049–1053. <https://doi.org/10.21273/JASHS.121.6.1049>.
12. De Rubel B., Audenaert D., Xuan W., Overvoorde P., Strader L. C., Kepinski S., et al. A role for the root cap in root branching revealed by the non-auxin probe naxillin // *Nature Chemical Biology*. 2012. Vol. 8, no. 9. P. 798–805. <http://doi.org/10.1038/nchembio.1044>.
13. Blazkova A., Sotta B., Tranvan H., Maldiney R., Bonnet M., Einhorn J., et al. Auxin metabolism and rooting in young and mature clones of *Sequoia sempervirens* // *Physiologia Plantarum*. 2006. Vol. 99. P. 73–80. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb03433.x>.
14. Li K., Liang Y., Xing L., Mao J., Liu Z., Dong F., et al. Transcriptome analysis reveals multiple hormones, wounding and sugar signaling pathways mediate adventitious root formation in apple rootstock // *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 19, no. 8. P. 2201. <https://doi.org/10.3390/ijms19082201>.
15. Epstein E., Ludwig-Müller J. Indole-3-butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolism and transport // *Physiologia Plantarum*. 1993. Vol. 88. P. 382–389. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1993.tb05513.x>.
16. Zhao Y. Auxin biosynthesis // *The Arabidopsis Book*. 2014. Vol. 2014, no. 12. <https://doi.org/10.1199/tab.0173>.
17. Song C., Zhang D., Zheng L., Shen Y., Zuo X., Mao J., et al. Genome-wide identification and expression profiling of the YUCCA gene family in *Malus domestica* // *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10. P. 10866. <http://doi.org/10.1038/s41598-020-66483-y>.
18. Рудиковский А. В., Рудиковская Е. Г., Дударева Л. В., Кузнецова Е. В. Уникальные и редкие формы яблони сибирской Селенгинского района Бурятии // *Сибирский экологический журнал*. 2008. Т. 15. N 2. С. 327–333.
19. Rudikovskii A. V., Stolbikova A. V., Rudikovskaya E. G., Dudareva L. V. Role of phytohormones in the formation of dwarf and tall Siberian crabapple (*Malus baccata* L. Borkh.) // *Zemdirbyste-Agriculture*. 2019. Vol. 106, no. 2. P. 167–172. <http://dx.doi.org/10.13080/z-a.2019.106.022>.
20. Damodaran S., Strader L. C. Indole 3-butyric acid metabolism and transport in *Arabidopsis thaliana* // *Frontiers in Plant Science*. 2019. Vol. 10. P. 851. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00851> 2019.
21. Sun C. Y., Wang Y., Xu X. F., Sun Y., Zhu L. H., Han Z. H. Regeneration from leaf segments of in vitro-grown shoots of *Malus baccata* // *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 2008. Vol. 36, no. 4. P. 233–238. <https://doi.org/10.1080/01140670809510239>.
22. Михайлова Т. И., Хабаров С. Н. Способы получения корнесобственного посадочного материала яблони для создания устойчивых насаждений // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2006. N 2. С. 63–69.

REFERENCES

1. Pop T. I., Pamfil D. C., Bellini C. Auxin control in the formation of adventitious roots. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2011;39(1):307–316. <https://doi.org/10.15835/nbha3916101> 2011.
2. Novikova G. V., Nosov A. V., Stepanchenko N. S., Fomenkov A. A., Mamaeva A. S., Moshkov I. E. Plant cell proliferation and its regulators. *Fiziologiya rastenii = Russian Journal of Plant Physiology*. 2013;60(4):529–536. (In Russian). <https://doi.org/10.7868/S0015330313040118>.
3. Song C., Zhang D., Zhang J., Zheng L., Zhao C., Ma J., et al. Expression analysis of key auxin syn-

thesis, transport, and metabolism genes in different young dwarfing apple trees. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2016;38. <http://doi.org/10.1007/s11738-016-2065-2>.

4. Bu H., Yu W., Yuan H., Yue P., Wei Y., Wang A. Endogenous auxin content contributes to larger size of apple fruit. *Frontiers in Plant Science*. 2020;11:592540. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.592540>.

5. Su Y., He H., Wang P., Ma Z., Mao J., Chen B. Genome-wide characterization and expression analyses of the auxin/indole-3-acetic acid (Aux/IAA) gene family in apple (*Malus domestica*). *Gene*. 2021;768:145302. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145302>.

6. Singh K. K., Chauhan J. S., Kumar P., Rawat J. M. S., Suwalk R. L. Effect of auxins, rooting media and vegetative propagation methods of apple (*Malus* spp.). *European Journal of Biotechnology and Bioscience*. 2019;7(2):82-88.

7. Bai T., Dong Z., Xianbo Z. X., Song S., Jiao J., Wang M., et al. Auxin and its interaction with ethylene control adventitious root formation and development in apple rootstock. *Frontiers Plant Science*. 2020;11:574881. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.574881>.

8. Cooper W. C. Hormones in relation to root formation on stem cuttings. *Plant Physiology*. 1935;10:789-794. <https://doi.org/10.1104/pp.10.4.789>.

9. Zimmerman P. W., Wilcoxon F. Several chemical growth substances which cause initiation of roots and other responses in plants. *Contributions from Boyce Thompson Institute*. 1935;7:209-229.

10. Mao J.-P., Zhang D., Zhang X., Li K., Liu Z., Meng Y., et al. Effect of exogenous indole-3-butyric acid (IBA) application on the morphology, hormone status, and gene expression of developing lateral roots in *Malus hupehensis*. *Scientia Horticulturae*. 2018;232:112-120. <https://doi.org/10.1016/J.SCIEN-TA.2017.12.013>.

11. Harbage J., Stimart D. P. Effect of pH and 1H-indole-3-butyric acid (IBA) on rooting of apple microcuttings. *American Society for Horticultural Science*. 1996;121(6):1049-1053. <https://doi.org/10.21273/JASHS.121.6.1049>.

12. De Rubel B., Audenaert D., Xuan W., Overvoorde P., Strader L. C., Kepinski S., et al. A role for the root cap in root branching revealed by the non-auxin probe naxillin. *Nature Chemical Biology*. 2012;8(9):798-805. <http://doi.org/10.1038/nchembio.1044>.

13. Blazkova A., Sotta B., Tranvan H., Maldiney R., Bonnet M., Einhorn J., et al. Auxin metabolism and rooting in young and mature clones of *Sequoia sempervirens*. *Physiologia Plantarum*. 2006;99:73-80. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb03433.x>.

14. Li K., Liang Y., Xing L., Mao J., Liu Z., Dong F., et al. Transcriptome analysis reveals multiple hormones, wounding and sugar signaling pathways mediate adventitious root formation in apple rootstock. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(8):2201. <https://doi.org/10.3390/ijms19082201>.

15. Epstein E., Ludwig-Müller J. Indole-3-butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolism and transport. *Physiologia Plantarum*. 1993;88:382-389. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1993.tb05513.x>.

16. Zhao Y. Auxin biosynthesis. *The Arabidopsis Book*. 2014;2014(12). <https://doi.org/10.1199/tab.0173>.

17. Song C., Zhang D., Zheng L., Shen Y., Zuo X., Mao J., et al. Genome-wide identification and expression profiling of the YUCCA gene family in *Malus domestica*. *Scientific Reports*. 2020;10:10866. <http://doi.org/10.1038/s41598-020-66483-y>.

18. Rudikovskiy A. V., Rudikovskaya E. G., Dudareva L. V., Kisnetcova L. V. Unique and rare forms of siberian apple tree in the Selenginsky region of Buryatia. *Sibirskii ekologicheskii zhurnal = Contemporary Problems of Ecology*. 2008;15(2):327-333. (In Russian).

19. Rudikovskii A. V., Stolbikova A. V., Rudikovskaya E. G., Dudareva L. V. Role of phytohormones on the formation of dwarf and tall Siberian crabapple (*Malus baccata* L. Borkh.). *Zemdirbyste-Agriculture*. 2019;106(2):167-172. <http://dx.doi.org/10.13080/z-a.2019.106.022>.

20. Damodaran S., Strader L. C. Indole 3-butyric acid metabolism and transport in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:851. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00851> 2019.

21. Sun C. Y., Wang Y., Xu X. F., Sun Y., Zhu L. H., Han Z. H. Regeneration from leaf segments of in vitro-grown shoots of *Malus baccata*. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 2008;36(4):233-238. <https://doi.org/10.1080/01140670809510239>.

22. Mikhailova T. I., Khabarov S. N. Methods to obtain scion-rooted planting stock of apple-tree for creation of stable plantations. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*. 2006;(2):63-69. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. В. Столбикова,
ведущий инженер,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
alecsandrit@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4086-7701>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Alexandra V. Stolbikova,
Leading Engineer,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
alecsandrit@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4086-7701>

Л. В. Дударева,

к.б.н., заведующий лабораторией
физико-химических методов исследования,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
laser@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1185-7467>

А. В. Рудиковский,

к.б.н., ведущий научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
rudikovalex@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8567-0318>

З. О. Ставицкая,

ведущий инженер,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
stavitskaya.zlata@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-6216-026X>

Т. В. Копытина,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
kopytina@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3788-0895>

Е. Г. Рудиковская,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
rudal69@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5709-2370>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 18.04.2022.
Одобрена после рецензирования 16.06.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.

Lubov V. Dudareva,

Cand. Sci. (Biology), Head of the Laboratory
of Physical and Chemical Research Methods,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
laser@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1185-7467>

Alexandr V. Rudikovskii,

Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
rudikovalex@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8567-0318>

Zlata O. Stavitskaya,

Leading Engineer,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
stavitskaya.zlata@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-6216-026X>

Tatiana V. Kopytina,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
kopytina@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3788-0895>

Elena G. Rudikovskaya,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
rudal69@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5709-2370>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests regard-
ing the publication of this article.

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

Information about the article

The article was submitted 18.04.2022.
Approved after reviewing 16.06.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.

УДК 541.64.547.304

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-627-632>



Полимер-полимерная смесь поливинилового спирта и полигексаметиленгуанидин гидрохлорида для задач антимикробной защиты поверхностей

Валерия Олеговна Окладникова, Олег Сергеевич Очиров,
Мария Николаевна Григорьева, Сергей Александрович Стельмах

Байкальский институт природопользования СО РАН, г. Улан-Удэ, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Очиров Олег Сергеевич, ochirov.o.s@yandex.ru

Аннотация. Проблема дезинфекции поверхностей начиная с 2020 года по текущее время особенно актуальна, в связи с чем подходы к ее реализации стали расширяться. Классические дезинфицирующие средства в виде концентрированных растворов или растворимых таблеток не в полной мере могут удовлетворить потребности при проведении мероприятий по антимикробной протекции поверхностей ввиду необходимости их регулярного повторения, что приводит к большому расходу средств, которые за последние два года подорожали на 30–50%. Поэтому для удешевления процедуры дезинфекции и увеличения ее эффективности предложен подход по созданию средств с пролонгированным действием путем формирования пленкообразующих антимикробных компонентов с хорошими адгезионными свойствами к различным поверхностям. Кроме того, такие системы могут найти применение в качестве добавок к лакокрасочным покрытиям на основе водных эмульсий на этапе косметического ремонта лечебно-профилактических учреждений. Такие материалы могут значительно замедлить скорость распространения вредоносной микрофлоры, а также обеспечить длительную защиту от нее. Для реализации такого подхода был разработан состав полимер-полимерной смеси на основе поливинилового спирта и полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Следует отметить, что гуанидинсодержащие полимеры проявляют высокую антимикробную активность и низкую токсичность по отношению к человеку, также они широко используются в качестве активных агентов дезинфицирующих средств. Поливиниловый спирт является отличным пленкообразующим полимером и обладает хорошими адгезионными свойствами, нетоксичен и химически инертен. Таким образом, применение таких добавок может существенно снизить распространение вредоносной микрофлоры, особенно на объектах с повышенной социальной нагрузкой.

Ключевые слова: полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, поливиниловый спирт, антимикробная активность, пленки

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Байкальского института природопользования Сибирского отделения Российской академии наук № 0273-2021-0007.

Для цитирования: Окладникова В. О., Очиров О. С., Григорьева М. Н., Стельмах С. А. Полимер-полимерная смесь поливинилового спирта и полигексаметиленгуанидин гидрохлорида для задач антимикробной защиты поверхностей // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 627–632. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-627-632>.

BRIEF COMMUNICATION

Polymer-polymer composition of polyvinyl alcohol and polyhexamethylene guanidine hydrochloride for antimicrobial surface protection

Valeria O. Okladnikova, Oleg S. Ochirov, Maria N. Grigor'eva, Sergey A. Stelmakh

Baikal Institute of Nature Management SB RAS, Ulan-Ude, Russian Federation

Corresponding author: Oleg S. Ochirov, ochirov.o.s@yandex.ru

Abstract. Since 2020, surface disinfection has become particularly relevant thus requiring improved approaches to its implementation. Conventional disinfectants comprising concentrated solutions or soluble tablets fail to fully comply with the need for antimicrobial protection of surfaces, calling for their repetitive application. This

© Окладникова В. О., Очиров О. С., Григорьева М. Н., Стельмах С. А., 2022

leads to considerable expenses, with the price of disinfectants rising by 30–50% over the past two years. In this article, agents characterised by prolonged action due to film-forming antimicrobial components having good adhesion to various surfaces are developed in order to reduce the cost of the disinfection procedure and increase its efficiency. In addition, such systems can be used as additives to water paint coatings for minor maintenance of medical and preventive institutions. These materials can significantly reduce the growth rate of the harmful bacteria population, as well as provide long-term protection against it. In order to implement this approach, the polymer-polymer composition based on polyvinyl alcohol and polyhexamethylene guanidine hydrochloride was developed. It should be noted that guanidine-containing polymers are characterised by high antimicrobial activity and low human toxicity, being also widely used as active agents in disinfectants. An excellent film-forming polymer exhibiting good adhesive properties, polyvinyl alcohol is non-toxic and chemically inert. Thus, the use of such additives can significantly reduce the extension of harmful bacteria, especially in crowded public areas.

Keywords: polyhexamethylene guanidine hydrochloride, polyvinyl alcohol, antimicrobial activity, films

Funding. The study was carried out within the framework of the state task of the Baikal Institute of Nature Management of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences no. 0273-2021-0007.

For citation: Okladnikova V. O., Ochirov O. S., Grigor'eva M. N., Stelmakh S. A. Polymer-polymer composition of polyvinyl alcohol and polyhexamethylene guanidine hydrochloride for antimicrobial surface protection. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):627-632. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-627-632>.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день в медицинской практике применяется значительное количество различных дезинфицирующих средств (ДС), имеющих в своем составе вещества синтетического и природного происхождения. Однако рост резистентности микроорганизмов к действию ДС приводит к понижению их эффективности. Наиболее остро эта проблема проявляется в лечебно-профилактических учреждениях в виде внутрибольничных инфекций (ВБИ), поэтому для подавления роста таких штаммов бактерий традиционно используется ротация ДС [1]. Недостатком такого подхода является наличие бактерий, проявляющих устойчивость ко всем видам ДС, что подтверждается данными мониторинга [2]. Решение данной проблемы возможно путем реализации подхода применения соединений, обладающих высокой антимикробной активностью в составе полимер-полимерной смеси, и нанесении ее на поверхность либо в качестве самостоятельного средства, либо при добавлении в вододисперсионные краски для обеспечения пассивной защиты от вредоносной микрофлоры. В качестве антимикробного агента предлагается использовать полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, характеризующийся высокой антимикробной активностью и низкой токсичностью [3–7], а в качестве пленкообразующего полимера – поливиниловый спирт [8–18].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Синтез произведен путем поликонденсации в расплаве гуанидин гидрохлорида (ГГХ) и гексаметилендиамина (ГМДА) при температуре 165 °С в течение 6 ч. ГМДА (99,5%, CAS: 124-09-4, Франция) и ГГХ (98%, CAS: 50-01-1, Германия) производства Acros Organics использовали без предварительной очистки. Соотношение мономеров

ГГХ:ГМДА составило 1:1,3, в результате чего был получен полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГХ) с разветвленной топологией макромолекулярной цепи и средневязкостной молекулярной массой $M_v = 2730$.

Получение пленочных материалов. Пленочные материалы были получены путем полива на стеклянную подложку совместных устойчивых водных растворов поливинилового спирта (ПВС) с $M_v = 87000$ (CAS 9002-89-5, ГОСТ 10779-78, Россия) и ПГМГХ с 8, 10, 12, 15 масс.% содержанием второго по следующей схеме (рис. 1) [19].

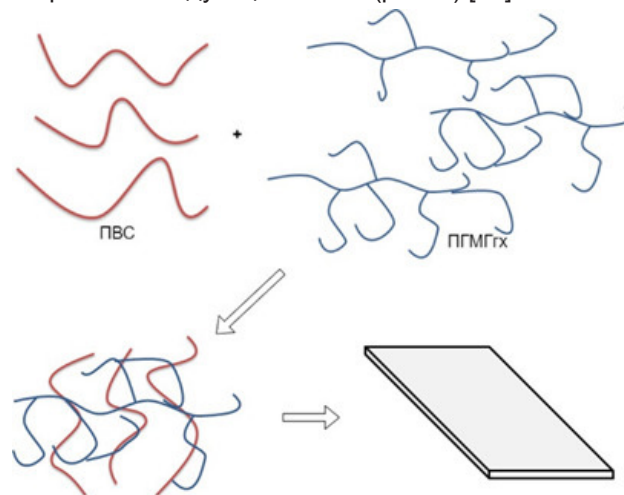


Рис. 1. Схематичное изображение получения пленочного материала на основе поливинилового спирта и полигексаметиленгуанидин гидрохлорида

Fig. 1. Scheme for obtaining a film material based on polyvinyl alcohol and polyhexamethylene guanidine hydrochloride

Полученные материалы были исследованы на базе Центра коллективного пользования Байкальского института природопользования СО РАН на

электромеханической разрывной машине Instron 3367 (Instron, США).

Краевой угол смачивания пленок определялся методом сидячей капли по ГОСТ 7934.2-74.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранее в работе [19] были получены пленочные материалы на основе ПВС и ПГМГх, было установлено, что наибольшее содержание ПГМГх в пленке составляет 15%. Это в первую очередь связано с резко ухудшающимися механическими свойствами материалов с большим содержанием ПГМГх. В рамках данной работы был проведен тест пленок на разрывной машине, показавший, что наилучшим результатом на прочность и растяжение является пленка, содержащая 10% ПГМГх (таблица). Вероятно, это связано с тем, что более низкомолекулярный ПГМГх выступает в роли пластификатора в этой системе и его добавка в небольшом количестве (до 10%) увеличивает эластичность материала по сравнению с пленками из чистого ПВС.

Сводная таблица механических характеристик пленочных материалов на основе поливинилового спирта и полигексаметиленгуанидин гидрохлорида

Mechanical characteristics of film materials based on polyvinyl alcohol and polyhexamethylene guanidine hydrochloride

№ образца	Содержание полигексаметиленгуанидин гидрохлорида	Максимальное растяжение при разрыве (%)	Прочность на разрыв (МПа)
1	8%	6,12	38,76
2	10%	6,18	39,30
3	12%	6,82	36,63
4	15%	2,97	35,10
5	ПВС	5,81	34,45

Значения краевого угла смачивания (θ) (рис. 2) находятся в пределах $15^\circ < \theta < 37^\circ$, что говорит о гидрофильности пленок и предопределяет их хорошую адгезию к поверхностям. Следует отметить, что с увеличением содержания ПГМГх θ увеличивается, что можно объяснить образованием большего числа межмолекулярных водородных связей между концевыми аминогруппами разветвленного ПГМГх и гидроксильными группами ПВС, а с учетом образования устойчивых совместных водных растворов можно утверждать о хорошей термодинамической совместимости этих полимеров.

Было проведено исследование антимикробной активности ПГМГх по отношению к резистентным штаммам микроорганизмов, показавшее, что наибольшее угнетение (100%) наблюдалось для грибов *Candida albicans* и *Staphylococcus aureus*, в то время как для *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*

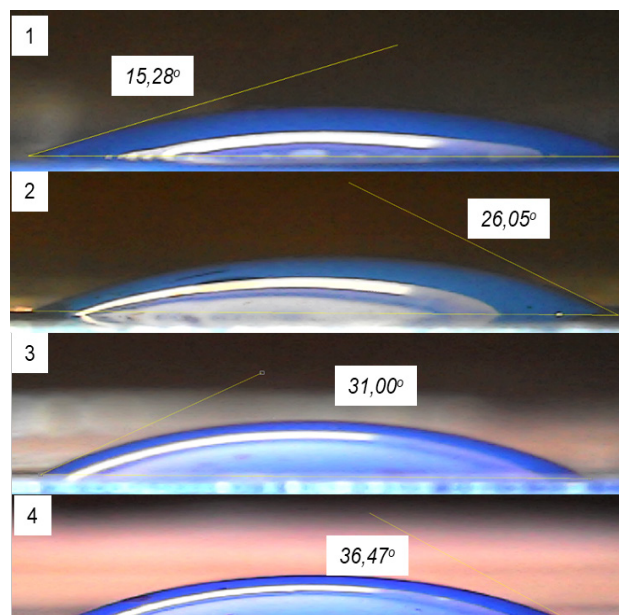


Рис. 2. Результаты определения краевого угла смачивания пленочных материалов на основе поливинилового спирта и полигексаметиленгуанидин гидрохлорида:

1 – 8% ПГМГх; 2 – 10% ПГМГх; 3 – 12% ПГМГх; 4 – 15% ПГМГх

Fig. 2. Contact angle of film materials based on polyvinyl alcohol and polyhexamethylene guanidine hydrochloride: 1 – 8% PHMGh; 2 – 10% PHMGh; 3 – 12% PHMGh; 4 – 15% PHMGh

baumannii, *Klebsiella pneumoniae* не превышало 41%, что говорит о сильно выраженной мультирезистентности к действию дезинфектантов, в том числе и антибиотиков [20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены материалы на основе полимер-полимерной смеси поливинилового спирта и полигексаметиленгуанидин гидрохлорида, которые охарактеризованы физико-химическими методами анализа. Проведено исследование механических характеристик, и определен краевой угол смачивания. Наилучшими механическими характеристиками обладает пленка, содержащая 10% полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Показано, что полимер-полимерная смесь проявляет антимикробную активность по отношению к микроорганизмам *Candida albicans* и *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, являющимися мультирезистентными, в частности к антибиотикам.

Дальнейшее развитие исследований будет направлено на получение композиций полимер-полимерной смеси с вододисперсионными красками и на оценку длительности их антимикробного действия по отношению к вредоносной микрофлоре, проявляющей в том числе мультирезистентность к действию антибиотиков и прочих ДС.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Шкарин В. В., Саперкин Н. В., Ковалишена О. В., Благодравова А. С., Широкова И. Ю., Кулюкина А. А. Региональный мониторинг устойчивости микроорганизмов к дезинфектантам: итоги и перспективы // Медицинский альманах. 2012. Т. 3. N 22. С. 122–125.
2. Albert M., Feiertag P., Hayn G., Saf R., Hönig H. Structure-activity relationships of oligoguanidines influence of counterion, diamine, and average molecular weight on biocidal activities // Biomacromolecules. 2003. Vol. 4, no. 6. P. 1811–1817. <https://doi.org/10.1021/bm0342180>.
3. Oule M. K., Azinwi R., Bernier A.-M., Kablan T., Maupertuis A.-M., Mauler S., et al. Polyhexamethylene guanidine hydrochloride-based disinfectant: a novel tool to fight methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and nosocomial infections // Journal of Medical Microbiology. 2008. Vol. 57. P. 1523–1528. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.2008/003350-0>.
4. Yangdeng P., Yan X., Show J., Huining X. Tailor-made antimicrobial/actival star polymer via ATRP of cyclodextrin and guanidine-based macromonomer // Macromolecular Chemistry and Physics. 2014. Vol. 216, no. 5. P. 511–518. <https://doi.org/10.1002/macp.201400525>.
5. Song Y., Li Q., Li Y., Zhi L. Biological behaviors of guanidine-based cationic surfactants // Journal of Surfactants and Detergents. 2014. Vol. 17, no. 3. P. 459–464. <https://doi.org/10.1007/s11743-013-1560-3>.
6. Grigor'eva M. N., Stel'makh S. A., Astakhova S. A., Tsenter I. M., Bazarov L. U., Batov V. B., et al. Biocidal action of copolymers based on aliphatic diamines and guanidine hydrochloride // Journal of Applied Polymer Science. 2014. Vol. 131, no. 11. P. 40319. <https://doi.org/10.1002/app.40319>.
7. Лебедева С. Н., Очиров О. С., Григорьева М. Н., Жамсаранова С. Д., Стельмах С. А., Могнонов Д. М. Острая токсичность гидрогеля полигексаметиленгуанидин гидрохлорида // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). 2020. Т. 5. N 4. С. 103–107. <https://doi.org/10.29413/ABS.2020-5.4.15>.
8. Maifreni M., Frigo F., Bartolomeoli I., Buiatti S., Picon S., Marino M. Bacterial biofilm as a possible source of contamination in the microbrewery environment // Food Control. 2015. Vol. 50. P. 809–814. <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>.
9. Gayan E., Serrano M. J., Pagan R., Alvarez I., Condon S. Environmental and biological factors influencing the UV-C resistance of *Listeria monocytogenes* // Food Microbiology. 2015. Vol. 46. P. 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.08.011>.
10. Munoz-Bonilla A., Fernandez-Garcia M. Polymeric materials with antimicrobial activity // Progress in Polymer Science. 2012. Vol. 37, no. 2. P. 281–339. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.08.005>.
11. Xi J., Wu Q., Xu Z., Wang Y., Zhu B., Fan L., et al. Aloe-emodin/carbon nanoparticle hybrid gels with light-induced and long-term antibacterial activity // ACS Biomaterials Science and Engineering. 2018. Vol. 4, no. 12. P. 4391–4400. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b00972>.
12. Kim J., Lee C.-M. Transdermal hydrogel composed of polyacrylic acid containing propolis for wound healing in a rat model // Macromolecular Research. 2018. Vol. 26, no. 13. P. 1219–1224. <https://doi.org/10.1007/s13233-019-7014-7>.
13. Bolto B., Tran T., Hoang M., Xie Z. L. Cross-linked poly(vinyl alcohol) membranes // Progress in Polymer Science. 2009. Vol. 34, no. 9. P. 969–981. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.05.003>.
14. Stasko J., Kalniņš M., Dzene A., Tupureina V. Poly(vinyl alcohol) hydrogels // Polymer Science. 2009. Vol. 58, no. 1. P. 63–66. <https://doi.org/10.3176/proc.2009.1.11>.
15. Chen S., Wang H., Jian Z., Fei G., Qian W., Luo G., et al. Novel poly(vinyl alcohol)/chitosan/modified graphene oxide biocomposite for wound dressing application // Macromolecular Bioscience. 2020. Vol. 20, no. 3. P. e1900385. <https://doi.org/10.1002/mabi.201900385>.
16. Хакамов Т. Ш., Феоктистов Д. В., Бадыкова Л. А., Корнилаев П. Г., Шавалеев Р. Р., Мударисова Р. Х. Создание и изучение модифицированных пленочных покрытий с регулируемыми транспортными свойствами // Журнал прикладной химии. 2013. Т. 86. N 9. С. 1450–1455.
17. Мударисова Р. Х., Бадыкова Л. А., Азаматова Г. А., Исламова Р. М., Азнабаев М. Т. Полимерные глазные пленки на основе поливинилового спирта и арабиногалактана с левофлоксацином // Журнал прикладной химии. 2013. Т. 86. N 4. С. 650–654.
18. Лебедева А. В., Ву Н. Т., Олехнович Р. О., Морозкина С. Н., Успенская М. В. Исследование получения нановолокон из водных растворов поливинилового спирта методом электроспиннинга // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2022. Т. 84. N 2. С. 210–220. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2022-2-210-220>.
19. Okladnikova V. O., Ochirov O. S., Grigor'eva M. N., Stelmakh S. A., Mogonov D. M. Obtaining a copolymer of polyhexamethylene guanidine hydrochloride and polyvinyl alcohol // Journal of Physics: Conference Series. 2021. Vol. 1989, no. 1. P. 012002. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1989/1/012002>.
20. Очиров О. С., Бурасова Е. Г., Стельмах С. А., Григорьева М. Н., Окладникова В. О., Могнонов Д. М. Антимикробная активность производных полигексаметиленгуанидина гидрохлорида по отношению к мультирезистентным штаммам микроорганизмов // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12. N 1. С. 193–196. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-AAO-1751>.

REFERENCES

1. Shkarin V. V., Saperkin N. V., Kovalishena O. V., Blagonravova A. S., Shirokova I. Yu., Kulyukina A. A. The regional monitoring of microorganisms resistance to disinfectants: results and perspectives. *Meditinskii al'manakh = Medical Almanac*. 2012;3(22):122-125. (In Russian).
2. Albert M., Feiertag P., Hayn G., Saf R., Hönig H. Structure-activity relationships of oligoguanidiness influence of counterion, diamine, and average molecular weight on biocidal activities. *Biomacromolecules*. 2003;4(6):1811-1817. <https://doi.org/10.1021/bm0342180>.
3. Oule M. K., Azinwi R., Bernier A.-M., Kablan T., Maupertuis A.-M., Mauler S., et al. Polyhexamethylene guanidine hydrochloride-based disinfectant: a novel tool to fight methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and nosocomial infections. *Journal of Medical Microbiology*. 2008;57:1523-1528. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.2008/003350-0>.
4. Yangdeng P., Yan X., Show J., Huining X. Tailor-made antimicrobial/activial star polymer via ATRP of cyclodextrin and guanidine-based macromonomer. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 2014;216(5):511-518. <https://doi.org/10.1002/macp.201400525>.
5. Song Y., Li Q., Li Y., Zhi L. Biological behaviors of guanidine-based cationic surfactants. *Journal of Surfactants and Detergents*. 2014;17(3):459-464. <https://doi.org/10.1007/s11743-013-1560-3>.
6. Grigor'eva M. N., Stel'makh S. A., Astakhova S. A., Tsenter I. M., Bazarov L. U., Batoev V. B., et al. Biocidal action of copolymers based on aliphatic diamines and guanidine hydrochloride. *Journal of Applied Polymer Science*. 2014;131(11):40319. <https://doi.org/10.1002/app.40319>.
7. Lebedeva S. N., Ochirov O. S., Grigoryeva M. N., Zhamsaranova S. D., Stelmakh S. A., Mogonov D. M. Acute toxicity of hydrogel polyhexamethylene guanidine hydrochloride. *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal)*. 2020;5(4):103-107. (In Russian). <https://doi.org/10.29413/ABS.2020-5.4.15>.
8. Maifreni M., Frigo F., Bartolomeoli I., Buiatti S., Picon S., Marino M. Bacterial biofilm as a possible source of contamination in the microbrewery environment. *Food Control*. 2015;50:809-814. <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>.
9. Gayan E., Serrano M. J., Pagan R., Alvarez I., Condon S. Environmental and biological factors influencing the UV-C resistance of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*. 2015;46:246-253. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.08.011>.
10. Munoz-Bonilla A., Fernandez-Garcia M. Polymeric materials with antimicrobial activity. *Progress in Polymer Science*. 2012;37(2):281-339. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.08.005>.
11. Xi J., Wu Q., Xu Z., Wang Y., Zhu B., Fan L., et al. Aloe-emodin/carbon nanoparticle hybrid gels with light-induced and long-term antibacterial activity. *ACS Biomaterials Science and Engineering*. 2018;4(12):4391-4400. <https://doi.org/10.1021/acs-biomaterials.8b00972>.
12. Kim J., Lee C.-M. Transdermal hydrogel composed of polyacrylic acid containing propolis for wound healing in a rat model. *Macromolecular Research*. 2018;26(13):1219-1224. <https://doi.org/10.1007/s13233-019-7014-7>.
13. Bolto B., Tran T., Hoang M., Xie Z. L. Cross-linked poly(vinyl alcohol) membranes. *Progress in Polymer Science*. 2009;34(9):969-981. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.05.003>.
14. Stasko J., Kalniņš M., Dzene A., Tupureina V. Poly(vinyl alcohol) hydrogels. *Polymer Science*. 2009;58(1):63-66. <https://doi.org/10.3176/proc.2009.1.11>.
15. Chen S., Wang H., Jian Z., Fei G., Qian W., Luo G., et al. Novel poly(vinyl alcohol)/chitosan/modified graphene oxide biocomposite for wound dressing application. *Macromolecular Bioscience*. 2020;20(3):e1900385. <https://doi.org/10.1002/mabi.201900385>.
16. Khakamov T. S., Feoktistov D. V., Badykova L. A., Kornilav P. G., Shavaleev R. R., Mudarisova R. K. Development and study of modified film coatings with controlled transport properties. *Zhurnal prikladnoi khimii = Russian Journal of Applied Chemistry*. 2013;86(9):1450-1455. (In Russian).
17. Mudarisova R. K., Badykova L. A., Azamatova G. A., Aznabaev M. T., Islamova R. M. Polymeric eye films based on polyvinyl alcohol and arabinogalactan with levofloxacin. *Zhurnal prikladnoi khimii = Russian Journal of Applied Chemistry*. 2013;86(4):650-654. (In Russian).
18. Lebedeva A. V., Vu N. T., Olekhovich R. O., Morozkina S. N., Uspenskaya M. V. Investigation of the fabrication of nanofibers from aqueous polyvinyl alcohol solutions by electrospinning. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologii = Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2022;84(2):210-220. (In Russian). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2022-2-210-220>.
19. Okladnikova V. O., Ochirov O. S., Grigor'eva M. N., Stelmakh S. A., Mogonov D. M. Obtaining a copolymer of polyhexamethylene guanidine hydrochloride and polyvinyl alcohol. *Journal of Physics: Conference Series*. 2021;1989(1):012002. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1989/1/012002>.
20. Ochirov O. S., Burasova E. G., Stelmakh S. A., Grigor'eva M. N., Okladnikova V. O., Mogonov D. M. Antimicrobial activity of polyhexamethylene guanidine hydrochloride derivatives against multiresistant microbial strains. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022;12(1):193-196. (In Russian). <https://doi.org/10.15789/2220-7619-AAO-1751>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. О. Окладникова,
инженер,
Байкальский институт природопользования
СО РАН,
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6,
Российская Федерация,
Lera-okladnikova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0903-8780>

О. С. Очиров,
к.фарм.н., научный сотрудник,
Байкальский институт природопользования
СО РАН,
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6,
Российская Федерация,
ochirov.o.s@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2317-4105>

М. Н. Григорьева,
к.х.н., ведущий инженер,
Байкальский институт природопользования
СО РАН,
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6,
Российская Федерация,
Gmn_07@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4184-2805>

С. А. Стельмах,
к.х.н., старший научный сотрудник,
Байкальский институт природопользования
СО РАН,
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6,
Российская Федерация,
S_stelmakh@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3392-5600>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 21.06.2022.
Одобрена после рецензирования 15.09.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Valeria O. Okladnikova,
Engineer,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sahyanova St., 670047, Ulan-Ude,
Russian Federation,
leraokladnikova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0903-8780>

Oleg S. Ochirov,
Cand. Sci. (Pharmacy), Researcher,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sahyanova St., 670047, Ulan-Ude,
Russian Federation,
ochirov.o.s@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2317-4105>

Maria N. Grigor'eva,
Cand. Sci. (Chemistry), Lead Engineer,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sahyanova St., 670047, Ulan-Ude,
Russian Federation,
gmn_07@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4184-2805>

Sergey A. Stelmakh,
Cand. Sci. (Chemistry), Senior Researcher,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sahyanova St., 670047, Ulan-Ude,
Russian Federation,
s_stelmakh@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3392-5600>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.*

Information about the article

The article was submitted 21.06.2022.
Approved after reviewing 15.09.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.



Исследование возможности модификации нетканых материалов хлоргексидином с целью придания антибактериальных свойств

Мария Сергеевна Лисаневич, Елена Вячеславовна Перушкина

Казанский национальный исследовательский технологический университет,
г. Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Лисаневич Мария Сергеевна, lisanevichm@gmail.com

Аннотация. В данной работе показана возможность модификации нетканого материала Холлофайбер® раствором хлоргексидина биглюконата 0,05% с целью придания противомикробной активности, т. к. данные материалы планируются для использования в новых медицинских изделиях, в частности для раневых повязок. Одним из этапов разработки раневой повязки на основе нетканого материала Холлофайбер® являлось придание антисептических свойств. Пропитка раствором хлоргексидина наносилась распылением с помощью пульверизатора, на поверхность нетканого материала раствор оседал в виде капель. Препарат наносили с 2-х сторон на образцы размером 210×297 мм. Образцы материалов после пропитки сушили до постоянной массы. Время просушки Холлофайбер® ВОЛЮМЕТРИК Р 84 составило 10 мин. Возможность придания антибактериальных свойств модифицированному нетканому материалу оценивали следующими методами: модифицированным диско-диффузионным (ДДМ) методом, измерением антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов, ISO-22196. Зона задержки роста бактерий *Staphylococcus aureus* для нетканых материалов Холлофайбер®, обработанных раствором хлоргексидина биглюконата 0,05%, составляет 17 мм, что свидетельствует о бактерицидных свойствах исследуемого материала. Кроме того, это подтверждается снижением количества бактерий после 24-часовой инкубации тест-микроорганизма в присутствии полимера. Процент гибели клеток *Staphylococcus aureus* составляет 99%. Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что нетканый материал Холлофайбер® для придания антибактериальных свойств может быть обработан раствором хлоргексидина биглюконата 0,05%. Вещество, которым был обработан опытный образец, остается в материале после сушки и проявляет антибактериальный эффект.

Ключевые слова: нетканый материал, Холлофайбер®, раствор хлоргексидина биглюконата, *Staphylococcus aureus*, бактерицидный эффект

Благодарности. Авторы выражают благодарность директору по развитию ООО «Термопол» (г. Москва) Владиславу Иванову за предоставленные материалы Холлофайбер®.

Для цитирования: Лисаневич М. С., Перушкина Е. В. Исследование возможности модификации нетканых материалов хлоргексидином с целью придания антибактериальных свойств // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 633–639. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-633-639>.

BRIEF COMMUNICATION

Modification of nonwoven fabrics with chlorhexidine to impart antibacterial properties

Maria S. Lisanevich, Elena V. Perushkina

Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Maria S. Lisanevich, lisanevichm@gmail.com

Abstract. This paper addresses the possibility of modifying the Holofiber® nonwoven fabrics with a 0.05% solution of chlorhexidine bigluconate in order to impart antimicrobial properties, since these materials are planned for medical use, in particular wound dressings. One stage in the development of a wound dressing based on nonwoven Holofiber® involved its impregnation with chlorhexidine by spraying a solution using a spray gun; the solution accumulated on the surface of the nonwoven fabrics in the form of drops. The agent was applied on both sides of samples having dimensions of 210×297 mm. Samples following impregnation were dried to a constant weight. The drying time of Holofiber® VOLUMETRIC P 84 amounted to 10 min. The antibacterial properties of modified nonwoven fabrics were evaluated by the following methods: modified disc diffusion (DDM) method, measurement of antibacterial activity on the surface of plastics and other non-porous materials, ISO-22196. The inhibition zone of *Staphylococcus aureus* bacteria for Holofiber® nonwoven fabrics treated with 0.05% chlorhexidine bigluconate solution amounted to 17 mm,

which indicates the bactericidal properties of the studied material. In addition, it was confirmed by a decrease in the number of bacteria following the 24-hour incubation of a test microorganism in the presence of a polymer. The percentage of *Staphylococcus aureus* cell death equalled 99%. These results indicate that the nonwoven HoloFiber® fabrics can be treated with a solution of chlorhexidine bigluconate 0.05% to impart antibacterial properties, since the substance used for treating a sample remains in the material following drying and exhibits an antibacterial effect.

Keywords: nonwoven fabric, HoloFiber®, chlorhexidine bigluconate solution, *Staphylococcus aureus*, bactericidal effect

Acknowledgements. The authors express their gratitude to Vladislav Ivanov, Development Director of Thermopol LLC (Moscow) for providing HoloFiber® materials.

For citation: Lisanevich M. S., Perushkina E. V. Modification of nonwoven fabrics with chlorhexidine to impart antibacterial properties. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):633-639. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-633-639>.

ВВЕДЕНИЕ

Под наименованием Холлофайбер® выпускается широкий спектр синтетических объемных нетканых материалов (НМ) [1], широко применяемых для производства одежды, обуви, строительных материалов, мебели, игрушек, туристических снаряжений. Благодаря научным исследованиям на основе нетканого материала Холлофайбер® получают различные инновационные изделия [2–7]. На данный момент активно ведутся разработки медицинских изделий на основе НМ Холлофайбер®, в частности разрабатывается раневая повязка для медицины [8].

В более ранних работах были изучены потребительские свойства НМ Холлофайбер®, в том числе для изготовления раневых повязок, и на основании полученных данных был выбран оптимальный НМ [8]. Также было показано, что НМ Холлофайбер® стоек к радиационной стерилизации [9].

Одним из этапов разработки раневой повязки на основе НМ Холлофайбер® являлось придание антисептических свойств.

В работе был выбран метод физического модифицирования, т. к. для производства данный метод наиболее оптимален по технологическому внедрению [10–14].

Однако стоит отметить тот факт, что довольно часто реагент не закрепляется на волокна НМ и тем самым не проявляется антисептический эффект, таким образом, исследование асептических свойств модифицированных НМ является актуальным.

В качестве антибактериального раствора был выбран раствор хлоргексидина биглюконата 0,05% благодаря низкой цене, доступности, а главное, его выраженному антимикробному действию и отсутствию сообщения о наличии резистентности патогенных микроорганизмов к хлоргексидину, несмотря на более чем 60-летний период активного применения препарата в клинике [15–17].

Целью данной работы является исследование возможности модификации НМ Холлофайбер® раствором хлоргексидина биглюконата 0,05% для придания антибактериальной активности, т. к. данные материалы планируется использовать в новых медицинских изделиях, в частности для раневых повязок.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектами исследований являлись НМ Холлофайбер® ВОЛЮМЕТРИК Р 84 с поверхностной плотностью 150 г/м² (производство ООО «Термопол», г. Москва) и модификатор – 0,05% раствор хлоргексидина биглюконата.

Пропитка наносилась распылением с помощью пульверизатора. При распылении на поверхность НМ раствор оседал в виде капель. Препарат наносили с 2-х сторон на образцы размером 210×297 мм. Образцы материалов после пропитки сушили до постоянной массы. Время просушки Холлофайбер® ВОЛЮМЕТРИК Р 84 составило 10 мин до постоянного веса (табл. 1).

Были исследованы образцы материалов со следующими обозначениями: контрольный (К) – НМ Холлофайбер® ВОЛЮМЕТРИК Р 84; модифицированный (М) – НМ Холлофайбер® ВОЛЮМЕТРИК Р 84, модифицированный раствором хлоргексидина биглюконата 0,05%.

Антибактериальную активность модифицированного хлоргексидином НМ в отношении *Staphylococcus aureus* исследовали методами дисковой диффузии на мясо-пептонном агаре (МПА) и в соответствии с требованиями ISO-22196 на поверхности полимера без добавления компонентов питательной среды.

В экспериментальных исследованиях применяли модифицированный диско-диффузионный метод определения чувствительности микробных клеток, который основан на способности антибактериальных препаратов диффундировать из полимерных мате-

Таблица 1. Контроль количества раствора хлоргексидина биглюконата, наносимого на образцы материалов

Table 1. Control of the amount of chlorhexidine bigluconate solution applied to materials

Материал	Масса образца до сушки, г	Масса образца после опрыскивания препаратом 1.1, г	Количество нанесенного раствора по отношению к массе образца до просушки, %	Масса образца после сушки 10 мин, г	Количество нанесенного раствора по отношению к массе образца после просушки, %
Холлофайбер® ВОЛЮМЕТРИК Р 84	7,85±0,54	20,46±0,73	61,63±0,07	13,87±0,55	11,74±0,09

риалов в питательную среду, при этом угнетается рост микробных клеток. В качестве тест-культуры использовали бактерии *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Методика приготовления микробной суспензии, инокуляции и инкубации чашек не отличается от стандартного исследования¹. Оптическая плотность инокулята визуально соответствовала стандарту мутности 0,5 по Мак-Фарланду¹, количество биомассы инокулята *St. aureus* определено методом количественного учета жизнеспособных клеток, оно составило $1,5 \times 10^8$ КОЕ/см³. Особенностью методики исследования является определение чувствительности стафилококков к компонентам НМ Холлофайбер®, для чего использовали диски опытного образца, модифицированного антисептиком, и контрольного образца НМ без его добавления. Необходимо отметить, что поверхностный высеv инокулята (1 см³) проводили на чашку Петри со стерильной средой – мясо-пептонный агар (толщина слоя среды $4 \pm 0,5$ мм). Поверхность среды высушили и нанесли диски модифицированного и контрольного НМ диаметром 10 мм на расстоянии 2 см друг от друга и от края в количестве 3 штук на 1 чашку Петри, что соответствовало 3-кратной повторности проведения эксперимента. Посевы инкубировали в термостате при температуре 35 °С в течение 24 ч. После инкубации определили диаметр зон задержки роста бактерий в присутствии полимерных образцов на темной матовой поверхности с точностью до 1 мм [18, 19]. При измерении зон задержки роста ориентировались на зону полного подавления видимого роста.

Количественный метод оценки антибактериальных свойств (ISO-22196) полимерных материалов предусматривает культивирование микроорганизма на поверхности полимера без добавления компонентов питательной среды. В стерильные чашки Петри помещали исследуемый образец нетканого модифицированного материала или контрольного материала размером 50×50 мм. На поверхность образца дозировали 0,40 см³ инокулята *St. aureus*, стерильно распределяя бактериальную суспензию по поверхности образцов. Опытные системы инкубировали при температуре 35 °С в течение 24 ч, после чего провели удаление микробной биомассы с поверхности полимерных образцов стерильным раствором фосфатного буфера. Для количественного учета клеток *St. aureus* на поверхности материала проводили высеv 0,10 см³ суспензии на стерильную питательную среду МПА методом Коха с последу-

ющим термостатированием при температуре 35 °С в течение 24 ч. Микробиологические исследования свойств полимерных материалов были выполнены в 3-х биологических повторностях для серии образцов согласно 2-м описанным методикам испытаний. Результаты количественного учета жизнеспособных клеток тест-микроорганизма на поверхности НМ статистически обработаны с определением среднего арифметического значения и стандартного отклонения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данных исследованиях диско-диффузионное определение чувствительности клеток микробов основано на способности антибактериального препарата диффундировать в питательные среды из полимерного материала, препятствуя росту микроорганизмов.

В табл. 2 и на рис. 1 представлены данные измерения зон задержки роста микроорганизмов

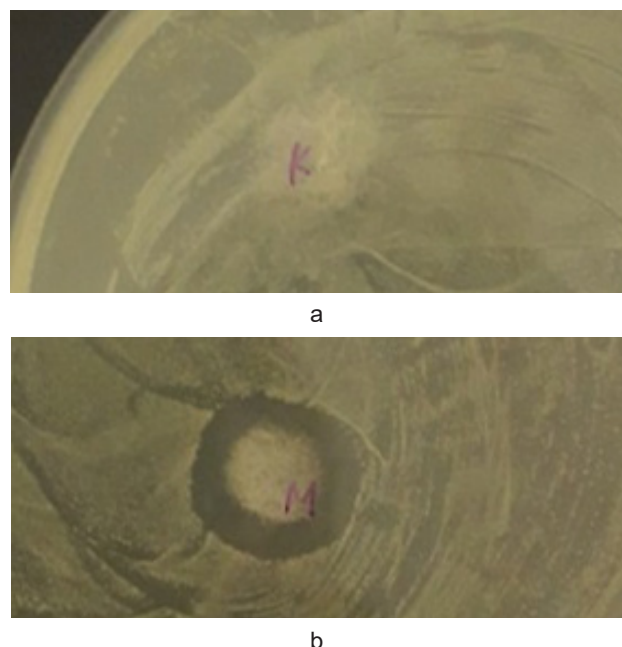


Рис. 1. Внешний вид выросших в присутствии полимерных образцов колоний *Staphylococcus aureus*: К – контрольный (а), М – модифицированный (б)

Fig. 1. Appearance of *Staphylococcus aureus* colonies grown in the presence of polymer samples: K – control (a), M – modified (b)

Таблица 2. Зона задержки роста микроорганизмов представленных образцов
 Table 2. Zone of microorganisms' growth inhibition of the presented samples

Исследуемый образец	Название материала	Диаметр зоны задержки роста бактерии, d _{зр} , мм
Контрольный (К)	Холлофайбер® ВОЛЮМЕТРИК Р 84	отсутствует
Модифицированный (М)	Холлофайбер® ВОЛЮМЕТРИК Р 84, модифицированный раствором хлоргексидина биглюконата 0,05%	17±1

¹МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 91 с.

в присутствии НМ Холлофайбер®, модифицированного раствором хлоргексидина биглюконата 0,05%.

Зона задержки роста тест-микроорганизма в присутствии НМ Холлофайбер®, обработанных раствором хлоргексидина биглюконата 0,05%, составляет 17 ± 1 мм. Полученное значение отли-

чается от известных ранее экспериментальных результатов, например, сотрудниками Центрального научно-исследовательского института стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Минздрава России установлена антимикробная активность раствора хлоргексидина биглюконата в концентрации 0,05% для бактерий *St. aureus* с зоной задерж-

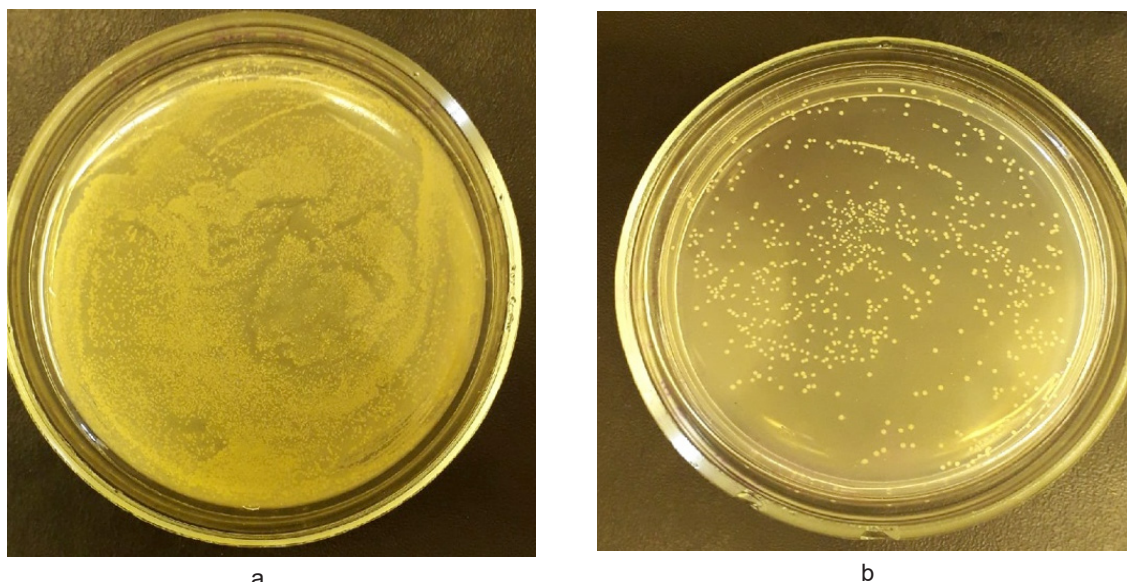


Рис. 2. Колонии бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, выросших на мясо-пептонном агаре из смывов с поверхности нетканого материала Холлофайбер®: а – контрольный; б – модифицированный, обработанный раствором хлоргексидина биглюконата 0,05%

Fig. 2. Colonies of bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 grown on beef-peptone agar from swabs from the surface of non-woven material Hollofiber®: a – control; b – modified, treated with a solution of chlorhexidine bigluconate 0.05%

Таблица 3. Число жизнеспособных клеток для исходного и модифицированного полимерного материала
Table 3. Number of viable cells for initial and modified polymeric material

Исследуемый образец	Название материала	Количество бактерий <i>Staphylococcus aureus</i> , КОЕ/см ³
Контрольный (К)	Нетканый материал Холлофайбер®	$(75,11 \pm 2,10) \times 10^6$
Модифицированный (М)	Нетканый материал Холлофайбер®, обработанный раствором хлоргексидина биглюконата 0,05%	$(0,53 \pm 0,05) \times 10^6$

ки роста 33 мм. Однако необходимо подчеркнуть, что в настоящем исследовании использовали антисептик в высушенном виде и равномерно распределенным на поверхности волокнистого материала Холлофайбер®, что может являться фактором, замедляющим диффузию хлоргексидина в толщу питательной среды и снижающим его влияние на рост тест-объекта.

В табл. 3 представлены экспериментально полученные и рассчитанные значения жизнеспособных клеток (КОЕ/см³) бактериальной суспензии для образцов Холлофайбер®. Выбранный метод тестирования полимеров позволяет количественно оценить гибель клеток тест-микроорганизма на поверхности образца исследуемого и контрольного материала (рис. 2).

Исследуемый материал Холлофайбер®, обработанный раствором хлоргексидина биглюконата 0,05%, обладает бактерицидным эффектом по отношению к *St. aureus*. Это подтверждается снижением количества бактерий после 24-часовой инкубации в присутствии полимера (см. табл. 3). Процент гибели клеток тест-объекта *St. aureus* составляет 99%.

В дальнейшем планируется провести клинические испытания данной повязки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что нетканый материал Холлофайбер® для придания антибактериальных свойств может быть обработан

раствором хлоргексидина биглюконата 0,05%. Вещество, которым был обработан опытный образец, остается в материале после сушки и про-

являет антибактериальный эффект в отношении *Staphylococcus aureus*.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Мезенцева Е. В., Иванов В. В., Мишаков В. Ю. Инновационные разработки теплоизоляционных нетканых материалов для различных секторов промышленности РФ // Экономические механизмы и управленческие технологии развития промышленности: сб. науч. тр. М.: РГУ им. А. Н. Косыгина, 2019. С. 118–122.
2. Иванов В. В., Мезенцева Е. В. Научные исследования как неотъемлемый фактор внедрения инноваций (на примере деятельности заводов нетканых материалов «Термопол», Холлофайбер®) // Физика волокнистых материалов: структура, свойства, наукоемкие технологии и материалы (SMARTEX). 2017. N 1. С. 25–31.
3. Мезенцева Е. В., Мишаков В. Ю. Использование технологии волокнистой термогенерации при создании инновационных нетканых материалов // Физика волокнистых материалов: структура, свойства, наукоемкие технологии и материалы (SMARTEX). 2020. N 1. С. 73–78. https://doi.org/10.47367/2413-6514_2020_1_73.
4. Иванов В. В., Мезенцева Е. В., Мишаков В. Ю. Современные технологические подходы к повышению теплоизоляционных свойств утепленной одежды // Дизайн, технологии и инновации в текстильной и легкой промышленности (ИННОВАЦИИ-2018): сб. статей. М.: РГУ им. А. Н. Косыгина, 2018. С. 160–164.
5. Мезенцева Е. В. Инновационные методы создания термоизоляционных саморегулирующихся волокнистых систем в «умной одежде» // Физика волокнистых материалов: структура, свойства, наукоемкие технологии и материалы (SMARTEX). 2018. N 1-2. С. 78–82.
6. Мезенцева Е. В., Мишаков В. Ю. Оценка теплоизоляционных свойств инновационных нетканых материалов с использованием интегрального показателя эффективности // Известия высших учебных заведений. Технология текстильной промышленности. 2019. N 6. С. 28–34.
7. Мезенцева Е. В. От традиции к современности. Разработка инновационных принципов теплоизоляции одежды // Мода и дизайн: исторический опыт – новые технологии: сб. статей. СПб.: СПб-ГУПТД, 2021. С. 283–286.
8. Лисаневич М. С., Галимзянова Р. Ю. Исследование потребительских характеристик материалов Холлофайбер® для раневых покрытий // Бутлеровские сообщения. 2021. Т. 67. N 8. С. 42–46. <https://doi.org/10.37952/ROI-jbc-01/21-67-8-42>.
9. Лисаневич М. С., Галимзянова Р. Ю., Хакимуллин Ю. Н., Федорова Т. А., Мезенцева Е. В., Иванов В. В. Исследование влияния радиационной стерилизации на нетканый материал Холлофайбер® // Известия высших учебных заведений. Технология текстильной промышленности. 2021. N 5. С. 94–101. https://doi.org/10.47367/0021-3497_2021_5_94.
10. Лукина Л. С., Гуляткина В. О., Царев А. Е. Выбор модифицирующих антибактериальных добавок для нетканых материалов, медицинского назначения // Аллея науки. 2020. Т. 1. N 8. С. 48–52.
11. Коньсбеков С. М., Кайпова Ж. Н. Состав и получение трикотажных и нетканых волокнистых материалов с антибактериальными свойствами // Информационное обеспечение науки как двигатель прогресса: сб. статей. Уфа: ОМЕГА САЙНС, 2020. С. 105–107.
12. Авдеева Е. В., Неверов А. С. Антибактериальные свойства нетканых материалов на основе полипропилена, модифицированных золькеталем // Новые материалы, оборудование и технологии в промышленности: сб. статей. Могилев: Белорусско-Российский университет, 2022. С. 55.
13. Одинцова О. И., Ильичева М. Д., Липина А. А., Петрова Л. С. Технологические особенности антимикробной обработки полипропиленового нетканого материала // Проблемы науки. Химия, химическая технология и экология: сб. статей. Тула, 2022. С. 383–387.
14. Ертас А. М., Буркитбай А., Ниязбеков Б. Ж., Таусарова Б. Р. Придание биоцидных свойств утеплительным материалам из льняных волокон // Вестник Алматинского технологического университета. 2021. N 2. С. 32–37. <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2021-2-32-37>.
15. Хуснаризанова Р. Ф., Валиева Н. Ф., Латыпова Н. А. Оценка влияния лечебно-профилактических средств содержащих хлоргексидин на клинко-микробиологическое состояние тканей пародонта у больных с хроническим гингивитом // Наука и современное общество: актуальные вопросы, достижения и инновации: сб. статей. Пенза: Наука и Просвещение (ИП Гуляев Г. Ю.), 2020. С. 195–197.
16. Акавов А. Н., Курбанов О. Р. Хлоргексидин-индометациновая комбинация в местной противовоспалительной терапии гингивитов и пародонтитов // Актуальные вопросы медицины. 2019. С. 100–101.
17. Квашнина Д. В., Ковалишена О. В. Распространенность устойчивости микроорганизмов к хлоргексидину по данным систематического обзора и анализа регионального мониторинга резистентности // Фундаментальная и клиническая медицина. 2018. Т. 3. N 1. С. 63–71.

18. Sadykova D. F., Gotlib E. M., Perushkina E. V., Sokolova A. G. Study of the resistance of PVC composite materials modified with wollastonite activated by QAS to bacteria // *Key Engineering Materials*. 2021. Vol. 899. P. 132–136.

19. Готлиб Е. М., Вдовина Т. В., Ямалеева Е. С.

Повышение биоразлагаемости эпоксидных материалов за счет модификации растительными маслами и их кислородсодержащими производными // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 4. С. 700–707. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-700-707>.

REFERENCES

1. Mezentseva E. V., Ivanov V. V., Mishakov V. Yu. Innovative development of nonwoven insulation materials to various sectors of Russian industry. In: *Ekonomicheskie mekhanizmy i upravlencheskie tekhnologii razvitiya promyshlennosti = Economic mechanisms and management technologies for industrial development*. Moscow: Rossiiskii gosudarstvennyi universitet imeni A. N. Kosygina; 2019, p. 118–122. (In Russian).

2. Ivanov V. V., Mezentseva E. V. Research as an integral factor in the adoption of innovations (on the example of the factories of nonwoven materials «Thermopol», LLC, Hollowfiber®). *Fizika voloknistykh materialov: struktura, svoystva, naukoemkie tekhnologii i materialy (SMARTEx)*. 2017;(1):25–31. (In Russian).

3. Mezentseva E. V., Mishakov V. Yu. The use of fiber thermogeneration technology in the creation of innivation nonwoven materials. *Fizika voloknistykh materialov: struktura, svoystva, naukoemkie tekhnologii i materialy (SMARTEx)*. 2020;(1):73–78. https://doi.org/10.47367/2413-6514_2020_1_73.

4. Ivanov V. V., Mezentseva E. V., Mishakov V. Yu. Modern technological approaches to improving the thermal insulation properties of insulated clothing. In: *Dizain, tekhnologii i innovatsii v tekstil'noi i legkoi promyshlennosti (INNOVATSII-2018) = Design, technology and innovation in the textile and light industry (INNOVATION-2018)*. Moscow: Rossiiskii gosudarstvennyi universitet imeni A. N. Kosygina; 2018, p. 160–164. (In Russian).

5. Mezentseva E. V. Innovative methods of creating a thermal insulation self-regulating fibrous systems in «smart clothes». *Fizika voloknistykh materialov: struktura, svoystva, naukoemkie tekhnologii i materialy (SMARTEx)*. 2018;(1-2):78–82. (In Russian).

6. Mezentseva E. V., Mishakov V. Yu. Evaluation of thermal insulation properties of innovative nonwoven materials using of an integral indicator of efficiency. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Tekhnologiya tekstil'noi promyshlennosti = Proceedings of higher Education Institutions. Textile Industry Technology*. 2019;(6):28–34. (In Russian).

7. Mezentseva E. V. From tradition to modernity. The development of innovative principles of thermal insulation of clothes. In: *Moda i dizain: istoricheskii opyt – novye tekhnologii = Fashion and design: historical experience – new technologies*. St. Petersburg: Sankt-Peterburgskii gosudarstvennyi universitet promyshlennykh tekhnologii i dizaina; 2021, 283–286 p. (In Russian).

8. Lisanevich M. S., Galimzyanova R. Yu. Investigation of consumer characteristics of Holofiber® materials for wound dressings. *Butlerovskie soobshcheniya = Butlerov Communications*. 2021;67(8):42–46. (In Russian). <https://doi.org/10.37952/ROI-jbc-01/21-67-8-42>.

9. Lisanevich M. S., Galimzyanova R. Yu., Hakimul-

lin Yu. N., Fedorova T. A., Mezentseva E. V., Ivanov V. V. Studies on the effects of radiation sterilization on non-woven fabric Hollofiber®. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Tekhnologiya tekstil'noi promyshlennosti = Proceedings of higher Education Institutions. Textile Industry Technology*. 2021;(5):94–101. (In Russian). https://doi.org/10.47367/0021-3497_2021_5_94.

10. Lukina L. S., Gulyatkina V. O., Tsarev A. E. The choice of modifying antibacterial additives for nonwovens, medical applications. *Alleya nauki*. 2020;1(8):48–52. (In Russian).

11. Konysbekov S. M., Kaipova Zh. N. Composition and production of knitted and non-woven fibrous materials with antibacterial properties. In: *Informatsionnoe obespechenie nauki kak dvigatel' progressa = Information support of science as an engine of progress*. Ufa: OMEGA SAINS; 2020, 105–107 p. (In Russian).

12. Avdeeva E. V., Neverov A. S. Antibacterial properties of nonwoven materials based on polypropylene modified with zolketal. In: *Novye materialy, oborudovanie i tekhnologii v promyshlennosti = New materials, equipment and technologies in industry*. Mogilev: Belorussko-Rossiiskii universitet; 2022, 55 p. (In Russian).

13. Odintsova O. I., Il'icheva M. D., Lipina A. A., Petrova L. S. Technological features of antimicrobial treatment of polypropylene nonwoven fabric. In: *Problemy nauki. Khimiya, khimicheskaya tekhnologiya i ekologiya = Problems of science. Chemistry, chemical technology and ecology*. Tula; 2022, 383–387 p. (In Russian).

14. Yertas A. M., Burkitbay A., Niyazbekov B. Zh., Taussarova B. R. Imparting biocidal properties to insulating materials made of linen fibres. *Vestnik Almatinskogo tekhnologicheskogo universiteta*. 2021;(2):32–37. (In Russian). <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2021-2-32-37>.

15. Khusnarizanova R. F., Valieva N. F., Latypova N. A. Evaluation of the influence of therapeutic and prophylactic agents containing chlorhexidine on the clinical and microbiological state of periodontal tissues in patients with chronic gingivitis. In: *Nauka i sovremennoe obshchestvo: aktual'nye voprosy, dostizheniya i innovatsii = Science and Modern Society: Current Issues, Achievements and Innovations*. Penza: Nauka i Prosveshchenie (IP Gulyaev G. Yu.); 2020, 195–197 p. (In Russian).

16. Akavov A. N., Kurbanov O. R. Chlorhexidine-indomethacin combination in local anti-inflammatory therapy of gingivitis and periodontitis. *Aktual'nye voprosy meditsiny = Topical issues of medicine*. 2019, 100–101 p. (In Russian).

17. Kvashnina D. V., Kovalishena O. V. Prevalence of microbial resistance to chlorhexidine: a systematic review and analysis of regional monitoring. *Funda-*

mental'naya i klinicheskaya meditsina = Fundamental and clinical medicine. 2018;3(1):63-71. (In Russian).

18. Sadykova D. F., Gotlib E. M., Perushkina E. V., Sokolova A. G. Study of the resistance of PVC composite materials modified with wollastonite activated by QAS to bacteria. *Key Engineering Materials.* 2021;899:132-136.

19. Gotlib E. M., Vdovina T. V., Yamaleeva E. S. Increasing the biodegradability of epoxy materials by means of vegetable oils and their oxygenated derivatives. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology.* 2020;10(4):700-707. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-700-707>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

М. С. Лисаневич,

к.т.н., доцент,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
lisamevichms@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9715-9231>

Е. В. Перушкина,

к.т.н., доцент,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68, Россий-
ская Федерация, perushkina_elena@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

*Поступила в редакцию 21.10.2022.
Одобрена после рецензирования 16.11.2022.
Принята к публикации 30.11.2022.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Maria S. Lisanevich,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Kazan National Research Technological University,
68, K. Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
lisamevichms@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9715-9231>

Elena V. Perushkina,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Kazan National Research Technological University,
68, K. Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
perushkina_elena@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

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.*

Information about the article

*The article was submitted 21.10.2022.
Approved after reviewing 16.11.2022.
Accepted for publication 30.11.2022.*

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ ТОМА 12, 2022 г.

А		Гундарева С.В.		<i>N1 С. 87-96</i>			
Абдикалыков Е.Н.	<i>N1 С. 141-152</i>	Д	Дегтярева И.А.	<i>N3 С. 438-446</i>			
Абдурашитов С.Ф.	<i>N1 С. 64-75</i>		Дейнека В.И.	<i>N1 С. 121-130</i>			
Агаев С.Г.	<i>N4 С. 612-619</i>		Дейнека Л.А.	<i>N1 С. 121-130</i>			
Адамович С.Н.	<i>N3 С. 485-490</i>		Донина К.Ю.	<i>N4 С. 521-537</i>			
Алферов С.В.	<i>N1 С. 50-63; N4 С. 521-537; N4 С. 589-598</i>		Дончева Ц.	<i>N2 С. 231-237</i>			
Антонова Е.В.	<i>N4 С. 521-537</i>	Доржиева С. Г.	<i>N4 С. 514-520</i>				
Анхтуя А.	<i>N3 С. 462-470</i>	Дорофеев Н.В.	<i>N3 С. 485-490</i>				
Ашуров А.И.	<i>N1 С. 38-49; N2 С. 279-290</i>	Дрюцкая С.М.	<i>N3 С. 373-382</i>				
Б		Дударева Л.В.	<i>N4 С. 620-626</i>				
Бабынин Э.В.	<i>N3 С. 438-446</i>	Дэлгэрбат Б.	<i>N2 С. 231-237</i>				
Базарова Ж.Г.	<i>N4 С. 514-520</i>	Е	Евстафьев С.Н.	<i>N1 С. 160-166</i>			
Баран А.	<i>N4 С. 538-546</i>			Егорова Н.А.	<i>N1 С. 64-75</i>		
Батбилег С.	<i>N3 С. 462-470</i>			Ж	Жанабаева А.К.	<i>N1 С. 141-152</i>	
Батхишиг Д.	<i>N3 С. 462-470</i>					Жданова Г.О.	<i>N1 С. 50-63</i>
Баяндин В.В.	<i>N3 С. 472-478</i>					Железнова С.Н.	<i>N1 С. 109-120</i>
Белков А.А.	<i>N2 С. 291-298</i>	Жижин Е.В.	<i>N2 С. 207-221</i>				
Белов Д.В.	<i>N2 С. 238-253</i>	Житов Р.Г.	<i>N3 С. 472-478</i>				
Белозерцева Н.Е.	<i>N1 С. 131-140</i>	Жумабаева Д.С.	<i>N1 С. 141-152</i>				
Беляев С.Н.	<i>N2 С. 238-253</i>	Журавлева А.С.	<i>N3 С. 417-423</i>				
Бехбудзада Н.Б.	<i>N3 С. 417-423</i>	З	Загорская М.С.	<i>N1 С. 64-75</i>			
Бишимбаева Г.К.	<i>N1 С. 141-152</i>			Закарчевский С.А.	<i>N1 С. 50-63</i>		
Блинова И.П.	<i>N1 С. 121-130</i>			Зубков И.Н.	<i>N3 С. 479-484</i>		
Богданов И.А.	<i>N1 С. 131-140</i>			Зуев Ю.Ф.	<i>N3 С. 406-416</i>		
Богданова И.Н.	<i>N4 С. 498-505</i>			Зуен Ф.Т.М.	<i>N4 С. 589-598</i>		
Борисова А.В.	<i>N2 С. 254-267</i>	Зунг Н.Т.	<i>N4 С. 589-598</i>				
Боряков А.В.	<i>N2 С. 207-221</i>	И	Икроми Х.И.	<i>N2 С. 279-290</i>			
Будаева В.В.	<i>N3 С. 383-393</i>			Исмоилов И.Б.	<i>N1 С. 38-49</i>		
Букин Ю.С.	<i>N3 С. 479-484</i>			Истомина Н.В.	<i>N4 С. 498-505</i>		
Бутрик Р.В.	<i>N4 С. 498-505</i>			Ищук Н.А.	<i>N2 С. 330-338</i>		
Быбин В.А.	<i>N2 С. 299-309</i>			К	Каныгина О.Н.	<i>N2 С. 222-230</i>	
Бычинский В.А.	<i>N1 С. 15-29</i>	Киргина М.В.	<i>N1 С. 131-140</i>				
В		Китаевская С.В.	<i>N1 С. 76-86</i>				
Валетова Н.Б.	<i>N1 С. 97-108</i>	Клементьев С.В.	<i>N3 С. 406-416</i>				
Ван Хекке К.	<i>N2 С. 180-191</i>	Кобелев А.В.	<i>N3 С. 406-416</i>				
Верочкина Е.А.	<i>N1 С. 167-172</i>	Кондрашов Е.В.	<i>N4 С. 498-505</i>				
Верпоорт Ф.	<i>N2 С. 180-191</i>	Коновалов Н.П.	<i>N2 С. 330-338</i>				
Виноградов В.В.	<i>N2 С. 339-348</i>	Константинович А.В.	<i>N1 С. 121-130</i>				
Вчисло Н.В.	<i>N1 С. 167-172</i>	Коньшин В.В.	<i>N4 С. 566-575</i>				
Вяткин А.В.	<i>N2 С. 321-329</i>	Копытина Т.В.	<i>N4 С. 620-626</i>				
Г		Королева А.В.	<i>N2 С. 207-221</i>				
Геворгиз Р.Г.	<i>N1 С. 109-120</i>	Корчевин Н.А.	<i>N4 С. 498-505</i>				
Гисматулина Ю.А.	<i>N3 С. 383-393</i>	Д	Дегтярева И.А.	<i>N3 С. 438-446</i>			
Говорин А.С.	<i>N2 С. 330-338</i>			Дейнека В.И.	<i>N1 С. 121-130</i>		
Гончарова А.А.	<i>N4 С. 576-588</i>			Дейнека Л.А.	<i>N1 С. 121-130</i>		
Готлиб Е.М.	<i>N3 С. 447-454</i>			Донина К.Ю.	<i>N4 С. 521-537</i>		
Грабельных В.А.	<i>N4 С. 498-505</i>			Дончева Ц.	<i>N2 С. 231-237</i>		
Григорьева М.Н.	<i>N3 С. 356-362; N4 С. 627-632</i>	Доржиева С. Г.	<i>N4 С. 514-520</i>				
Гришкова А.В.	<i>N4 С. 566-575</i>	Дорофеев Н.В.	<i>N3 С. 485-490</i>				
Губанов Н.Д.	<i>N2 С. 330-338</i>	Дрюцкая С.М.	<i>N3 С. 373-382</i>				

Корягин А.В. N1 С. 97-108
Крыжко А.В. N4 С. 557-565
Куаме К.Э. N1 С. 153-160
Кулиева С.Г. N3 С. 455-461
Купчинский А.Б. N1 С. 50-63; N4 С. 521-537

Л

Лазукин А.В. N1 С. 87-96
Ларина Л.И. N1 С. 167-172
Лебедева О.В. N2 С. 192-207
Лисаневич М.С. N4 С. 633-639
Ломоватская Л.А. N2 С. 268-278
Лукин А.С. N3 С. 472-478
Лыков А.П. N1 С. 109-120
Лыонг Т.М. N4 С. 589-598
Львов А.Г. N1 С. 153-160

М

Магеррамов А.М. N1 С. 30-37
Макаров С.С. N3 С. 394-405
Макарова Л.Е. N3 С. 394-405
Максимова Л.А. N2 С. 299-309; N3 С. 424-437
Макшакова О.Н. N3 С. 406-416
Мамедов И.Г. N3 С. 455-461
Марквичев Н.С. N3 С. 417-423
Маркова Ю.А. N2 С. 299-309
Миневич И.Э. N4 С. 576-588
Минич М.В. N3 С. 417-423
Муухидинов З.К. N1 С. 38-49; N2 С. 279-290;
N4 С. 547-556

Н

Налибаева А.М. N1 С. 141-152
Нам Н.В.Т. N4 С. 589-598
Насриддинов А.С. N1 С. 38-49; N2 С. 279-290;
N4 С. 547-556
Нгиа В.Т. N4 С. 589-598
Непомнящих А.И. N1 С. 15-29
Нечаева И.А. N4 С. 521-537
Нечипоренко А.П. N4 С. 576-588
Нурминский В.Н. N1 С. 87-96
Нцуму Р.Ш. N3 С. 447-454

О

Оборина Е.Н. N3 С. 485-490
Огарков Б.Н. N4 С. 521-537
Окладникова В.О. N3 С. 356-362; N4 С. 627-632
Олейниц Е.Ю. N1 С. 121-130
Очиров О.С. N3 С. 356-362; N4 С. 627-632

П

Пензин А.А. N4 С. 599-604
Перушкина Е.В. N3 С. 447-454; N4 С. 633-639
Петрова И.Г. N3 С. 394-405
Петрова Ю.Ю. N4 С. 521-537
Петрушенко И.К. N3 С. 363-372

Пещерова С.М. N1 С. 15-29
Пионкевич В.А. N3 С. 394-405
Писаревская В.А. N3 С. 417-423
Повещенко О.В. N1 С. 109-120
Поморцев А.В. N3 С. 485-490
Понаморева О.Н. N4 С. 589-598
Пономарев В.Я. N1 С. 76-86
Пономарева П.А. N2 С. 222-230
Пресняков Р.В. N1 С. 15-29
Прищепенко Е.А. N3 С. 438-446
Пуревсурен Б. N3 С. 462-470
Пырко А.Н. N1 С. 8-14

Р

Рабинович Г.Ю. N2 С. 310-320
Раднаева Л.Д. N4 С. 605-611
Рахимнеджад М. N1 С. 50-63
Решетник О.А. N1 С. 76-86
Рогов А.М. N3 С. 406-416
Розенцвейг И.Б. N4 С. 498-505
Романенко А.С. N2 С. 268-278
Руденко Е.Ю. N4 С. 506-513
Рудиковская Е.Г. N4 С. 620-626
Рудиковский А.В. N4 С. 620-626
Руссавская Н.В. N4 С. 498-505
Рыбарчук О.В. N2 С. 330-338

С

Саксонов М.Н. N1 С. 50-63
Сальников В.В. N3 С. 406-416
Сальникова Е.В. N2 С. 222-230
Самохвалов Н.М. N2 С. 339-348
Семенычева Л.Л. N1 С. 97-108; N2 С. 207-221
Сипкина Е.И. N2 С. 192-207
Сироткин А.С. N3 С. 406-416
Смаглий Н.Н. N4 С. 557-565
Смирнова Ю.Д. N2 С. 310-320
Соколова Н.А. N3 С. 394-405
Солонго А. N2 С. 231-237
Сорокоумов П.Н. N3 С. 479-484
Сосновская Н.Г. N4 С. 498-505
Ставицкая З.О. N4 С. 620-626
Стельмах С.А. N3 С. 356-362; N4 С. 627-632
Столбиков А.С. N1 С. 87-96
Столбикова А.В. N4 С. 620-626
Стом Д.И. N1 С. 50-63; N4 С. 521-537
Стурова Ю.Г. N4 С. 566-575
Сулейманов Е.В. N1 С. 97-108; N2 С. 207-221
Суходолов И.А. N1 С. 121-130
Сэлэнгэ Д. N2 С. 231-237

Т

Тигунцева Н.П. N1 С. 160-166
Тимкин П.Д. N4 С. 599-604
Титов Е.А. N1 С. 167-172
Тиунов В.М. N2 С. 321-329

Толстенок И.В.	<i>N3 C. 373-382</i>	Черепанов И.С.	<i>N2 C. 291-298</i>
Толстой М.Ю.	<i>N1 C. 50-63</i>	Чеснокова А.Н.	<i>N1 C. 50-63</i>
Топчий И.А.	<i>N4 C. 521-537</i>	Чи Ч.Н.Л.	<i>N4 C. 589-598</i>
Торчакова О.М.	<i>N1 C. 131-140</i>	Чугунова О.В.	<i>N2 C. 321-329</i>
Третьякова А.В.	<i>N1 C. 87-96</i>	Чуешова А.Г.	<i>N1 C. 15-29</i>
Турская А.Л.	<i>N2 C. 299-309</i>	Чырагов Ф.М.	<i>N1 C. 30-37</i>
У		Ш	
Уваров И.П.	<i>N1 C. 109-120</i>	Шавыркина Н.А.	<i>N3 C. 383-393</i>
Уромичева М.А.	<i>N1 C. 97-108</i>	Шагаев А.А.	<i>N3 C. 417-423</i>
Усманова С.Р.	<i>N1 C. 38-49; N2 C. 279-290;</i> <i>N4 C. 547-556</i>	Шагжав Э.	<i>N3 C. 462-470</i>
Ущাপовский В.И.	<i>N4 C. 576-588</i>	Шаглаева Н.С.	<i>N3 C. 472-478</i>
Ф		Шафикова Т.Н.	<i>N3 C. 424-437</i>
Файзуллин Д.А.	<i>N3 C. 406-416</i>	Шерова З.У.	<i>N2 C. 279-290</i>
Федотов А.А.	<i>N4 C. 506-513</i>	Шерова З.У.	<i>N4 C. 547-556</i>
Филинова Н.В.	<i>N2 C. 268-278</i>	Ширеторова В.Г.	<i>N4 C. 605-611</i>
Фомина Е.С.	<i>N1 C. 160-166</i>	Шишлянников С.М.	<i>N3 C. 479-484</i>
Фомичева Н.В.	<i>N2 C. 310-320</i>	Э	
Францетти А.	<i>N1 C. 50-63</i>	Энхдул Т.	<i>N1 C. 50-63</i>
Фукина Д.Г.	<i>N1 C. 97-108; N2 C. 207-221</i>	Эрдынеева С.А.	<i>N4 C. 605-611</i>
Х		Эфендиева Н.Т.	<i>N1 C. 30-37</i>
Хамад Ф.Б.	<i>N2 C. 180-191</i>	Ю	
Холов Ш.Ё.	<i>N1 C. 38-49; N4 C. 547-556</i>	Юдина Н.Ю.	<i>N1 C. 50-63; N4 C. 589-598</i>
Ч		Юй Б.	<i>N2 C. 180-191</i>
Часова В.О.	<i>N1 C. 97-108; N2 C. 207-221</i>	Я	
Чеботок Е.М.	<i>N2 C. 321-329</i>	Яковлев Н.С.	<i>N4 C. 612-619</i>
Червоткина Д.Р.	<i>N2 C. 254-267</i>	Якушева Н.Ю.	<i>N3 C. 373-382</i>
		Ямалеева Е.С.	<i>N3 C. 447-454</i>

Уважаемые читатели!

Приглашаем Вас к активному творческому сотрудничеству по научным направлениям:

- Химические науки
- Физико-химическая биология
- Химическая технология

Журнал «Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология» включен в перечень рецензируемых научных изданий (**Перечень ВАК**) и следующие базы данных: Russian Science Citation Index (**RSCI**), Web of Science (**ESCI**), Chemical Abstracts Service (**CAS**), **EBSCO** Publishing Databases, European Reference Index for the Humanities and the Social Sciences (**ERIH PLUS**), **ВИНИТИ РАН**, система Российского индекса научного цитирования, представлен в электронной библиотеке «**Cyberleninka**», Directory of Open Access Journals (**DOAJ**) и описан в **Ulrich's Periodicals Directory**.

Публикациям журнала присваивается **DOI (Digital object identifier)**.

Редколлегия

Dear readers!

We would like to invite you to creative cooperation in the fields:

- Chemical Sciences
- Physical-Chemical and General Biology
- Chemical Technology

The Journal «Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya» is included in the list of journals which are regarded as academic publications by the State Commission for Academic Degrees and Titles (**ВАК**). The Journal also is indexing in Russian Science Citation Index (**RSCI**), Web of Science (**ESCI**), Chemical Abstracts Service (**CAS**), **EBSCO** Publishing Databases, European Reference Index for the Humanities and the Social Sciences (**ERIH PLUS**), **VINITI** Database (Referativnyi Zhurnal), Russian Science Citation Index, included in the digital scientific library **Cyberleninka**, Directory of Open Access Journals (**DOAJ**) and is described in **Ulrich's Periodicals Directory**.

Publications are assigned a **DOI (Digital object identifier)**.

Editorial Board

ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия и биотехнология
Том 12 N 4 (43) 2022

12+

PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
Applied chemistry and biotechnology
Volume 12 No. 4 (43) 2022

Редактор Л.М. Щепина
Перевод на английский язык: М. В. Стрелецкая, Н. Г. Попова,
Anastasia Stocis, Thomas Beavitt, Е. А. Привалова

Компьютерный набор и верстка В.В. Макаров

Дата выхода в свет 30.12.2022. Формат 60 x 90 / 8.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Усл. печ. л. 19.
Тираж 500 экз. Зак. 150. Поз. плана 5н.

Отпечатано в типографии издательства
ФГБОУ ВО «ИРНИТУ»
Адрес типографии:
664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 81/12А

Издание распространяется бесплатно
ФГБОУ ВО «ИРНИТУ»,
664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83