

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

12+

Том 15 N 3

2025



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ

**Прикладная химия
и биотехнология**

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ

ИРКУТСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия
и биотехнология

Том 15 N 3 (54) 2025



ИЗДАТЕЛЬСТВО
Иркутского национального исследовательского
технического университета



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
ПРИКЛАДНАЯ ХИМИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ
Том 15 N 3 (54) 2025

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор:

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

Заместитель главного редактора:

Львов А.Г. д.х.н., профессор кафедры химии и биотехнологии Иркутского национального исследовательского технического университета (Иркутск, Россия)

Члены редакционной коллегии:

Базарнова Ю.Г. д.т.н., профессор, директор Высшей школы биотехнологии и пищевых производств Института биомедицинских систем и биотехнологий Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого (Санкт-Петербург, Россия)

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

Братская С.Ю. д.х.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией сорбционных технологий и функциональных материалов Института химии ДВО РАН (Владивосток, Россия)

Варфоломеев С.Д. д.х.н., профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (Москва, Россия)

Верпоорт Фрэнсис доктор наук, профессор, государственная ключевая лаборатория передовых технологий синтеза и обработки материалов, Уханьский технологический университет (Ухань, Китай)

Воронов В.К. д.х.н., профессор, Заслуженный деятель науки РФ, профессор-консультант, отделение прикладной математики и информатики Иркутского национального исследовательского технического университета (Иркутск, Россия)

Го Эньцзюнь доктор наук, декан Китайско-российского института химии конструкционных материалов Ляонинского университета науки и технологии (Ляонин, 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 (Москва, Россия)

Жеребцов С.И. д.х.н., главный научный сотрудник, заведующий лабораторией института углекислотной и химического материаловедения Федерального исследовательского центра угля и углекислотной химии СО РАН (Кемерово, Россия)

Непомнящих А.И. д.ф.м.н., профессор, Заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник лаборатории физики монокристаллов Института геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН (Иркутск, Россия)

Никольшин П.А. д.х.н., заместитель генерального директора по науке АО «Всероссийский научно-исследовательский институт по переработке нефти» (Москва, Россия)

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

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

Саловарова В.П. д.б.н., профессор, заведующая кафедрой физико-химической биологии, биоинженерии и биоинформатики Иркутского государственного университета (Иркутск, Россия)

Санжиб Кумар Панда доктор наук, профессор, профессор кафедры наук о жизни и биоинформатики Университета Ассам (Силчар, Индия)

Сироткин А.С. д.т.н., директор Института пищевых производств и биотехнологии Казанского национального исследовательского технического университета (Казань, Россия)

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

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

Цивилева О.М. д.б.н., ведущий научный сотрудник Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (Саратов, Россия)

Чхенкели В.А. д.б.н., профессор, генеральный директор ООО «Биотехвет» (Иркутск, Россия)

Шэнь Яньмин профессор, заместитель декана факультета химической инженерии Шеньянского института химической технологии (Шеньян, Китай)

Ответственный секретарь:

Чеснокова А.Н. к.х.н., доцент кафедры химии и биотехнологии Иркутского национального исследовательского технического университета (Иркутск, Россия)

Журнал основан в 2011 г.

Периодичность издания – ежеквартально

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

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

Подписной индекс в ООО «Урал-Пресс» – 41903

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

Учредитель и издатель:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Иркутский национальный исследовательский технический университет»
Россия, 664074, Иркутск, ул. Лермонтова, 83

Издательство:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Иркутский национальный исследовательский технический университет»
Россия, 664074, Иркутск, ул. Лермонтова, 83А

Адрес редакции:

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

E-mail: biochem@istu.edu

**PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
APPLIED CHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY
IZVESTIYA VUZOV
PRIKLADNAYA KHIMIYA I BIOTEKHNOLOGIYA
Volume 15 No. 3 (54) 2025**

EDITORIAL BOARD

Editor in Chief

Sergei N. Evstaf`ev

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

Deputy Chief Editor

Andrey G. Lvov

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

Editorial council

Julia G. Bazarnova

Dr. Sci. (Engineering), Professor, Director of the Higher School of Biotechnology and Food Technologies, Institute of Biomedical Systems and Biotechnology, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University (St. Petersburg, Russia)

Gennadiy B. Borovskii

Dr. Sci. (Biology), Professor, Deputy Director of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Irkutsk, Russia)

Svetlana Yu. Bratskaya

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Correspondent member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Sorption Technologies and Functional Materials, Institute of Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (Vladivostok, Russia)

Sergey D. Varfolomeyev

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Correspondent member of the Russian Academy of Sciences, Scientific supervisor of N.M. Emmanuel Institute of Biochemical Physics (Moscow, Russia)

Francis Verpoort

Ph.D. (Chemistry), Professor, State Key Laboratory of Advanced Technology for Material Synthesis and Processing, Wuhan University of Technology (Wuhan, China)

Vladimir K. Voronov

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

Enjun Gao

Dr. Sci., Dean of the Chinese-Russian Institute of Chemistry of Engineering Materials, University of Science and Technology Liaoning (Liaoning, China)

Mirali N. Dadashev

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

Sergey I. Zherebtsov

Dr. Sci. (Chemistry), Chief Researcher; Head of the Laboratory of Institute of Coal Chemistry and Chemical Materials Science, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Kemerovo, Russia)

Alexander I. Nepomnyashchikh

Dr. Sci. (Phys.Math.), Professor, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Chief Researcher, Laboratory of Physics of Single Crystals of Vinogradov Institute of Geochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Irkutsk, Russia)

Pavel A. Nikulshin

Dr. Sci. (Chemistry), Deputy General Director for Science, All-Russian Research Institute for Oil Refining (Moscow, Russia)

Purevsuren Barnasan

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

Mostafa Rahimnejad

Ph.D. (Biotechnology-Chemical Engineering), Professor, Chemical Engineering Department, Babol Noshirvani University of Technology (Babol, Iran)

Valentina P. Salovarova

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

Sanjib Kumar Panda

Ph.D., Professor, Department of Life Science and Bioinformatics, Assam University (Silchar, India)

Alexander S. Sirotkin

Dr. Sci. (Engineering), Director of Institute of Food Production and Biotechnology, Kazan National Research Technical University (Kazan, Russia)

Boris A. Ulyanov

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

Vitaliy V. Khutoryanskiy

Cand. Sci. (Chemistry), Professor, Pharmaceutical School, University of Reading (London, Great Britain)

Olga M. Tsivileva

Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences (Saratov, Russia)

Vera A. Chkhenkeli

Dr. Sci. (Biology), Professor, General Director of OOO Biotechvet (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), Associate Professor, Chemistry and Biotechnology Department, Irkutsk National Research Technical University (Irkutsk, Russia)

The journal was founded in 2011

The journal is issued quarterly

The journal is registered with the Federal Agency for Supervision of Communications,
Information Technologies and Mass Media

Certificate registration FS 77-62814 of 18 August, 2015

The subscription code in Ural-Press LLC: 41903

The postal address of Ural-Press LLC: 130, Mamin-Sibiryak St., Yekaterinburg, 620026, Russian Federation

Founder and Publisher:

the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education
"Irkutsk National Research Technical University"
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074, Russian Federation

Publishing Office:

the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education
"Irkutsk National Research Technical University"
83A, Lermontov St., Irkutsk, 664074, Russian Federation

Editorial address:

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

СОДЕРЖАНИЕ

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Афонин Е.Г. Этилендиаминтетраацетные электролиты для получения покрытий сурьмой.....	294
Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г. Синтетические компоненты гидрогелей в тканевой инженерии.....	305
Грабельных В.А., Сосновская Н.Г., Истомина А.А., Албанов А.И., Корчевин Н.А., Истомина Н.В., Розенцвейг И.Б. Конденсация 2-хлорпиридиний хлорида с тиомочевинной: строение образующегося продукта и его использование в качестве блескообразующей добавки в электролит никелирования...	318
Фарион И.А. Теоретическое исследование карбокатионных производных винилглицидилового эфира этиленгликоля полуэмпирическим методом РМЗ.....	328

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Щербакова Ю.В., Ахмадулина Ф.Ю., Сироткин А.С. Перспективы биомониторинга при оценке качества молочного сырья казеинового типа.....	337
Кащеева Е.И., Будаева В.В., Золотухин В.Н. Сравнительная оценка ферментных препаратов для конверсии предобработанной шелухи овса.....	347
Тарасов С.С., Михалев Е.В., Крутова Е.К. Экстракт из отработанного соломенного субстрата вешенки – состав, регуляторная и протекторная активность в отношении прорастающих семян пшеницы.....	357
Имидоева Н.А., Малыгина Е.В., Бельшенко А.Ю., Вавилина Т.Н., Шелковникова В.Н., Дмитриева М.Е., Моргунова М.М., Тельнова Т.Ю., Баталова А.А., Аксёнов-Грибанов Д.В. Исследование антагонистической активности грибных симбионтов черного трюфеля.....	370
Галимзянова Р.Ю., Перушкина Е.В., Лисаневич М.С., Али Е. Исследование свойств нетканых материалов, модифицированных раствором хитозана.....	377
Сысоева М.А., Прозорова И.Ш., Сысоева Е.В. Влияние состава среды на рост мицелия и биосинтез метаболитов <i>Daedaleopsis tricolor</i>	385
Дейнека В.И., Олейниц Е.Ю., Фарафонова М.С., Дейнека Л.А., Чулков А.Н. Контроль сорбционного процесса декофеинизации напитка мате.....	395
Стрекаловская Е.И., Беловежец Л.А. Нетрадиционные дрожжи <i>Meuzerozyma guilliermondii</i> Y-780 в качестве продуцента белка при глубокой ферментации гидролизата отходов лесопиления.....	403

ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Гоненко Н.П., Раскулова Т.В., Каницкая Л.В., Кузора И.Е., Коновалов Н.П. Синтез и исследование свойств новых депрессорных присадок к дизельным топливам на основе сополимеров этилена и стирола.....	412
Короткова Т.Г., Заколюкина А.М., Бушумов С.А. Кинетика сорбции фосфатов сорбентом из золошлаковых отходов.....	423

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Кожемякин Д.С., Каменская Е.П., Вистовская В.П. Оценка эффективности культивирования микроорганизмов – продуцентов белка на гидролизатах пивной дробины.....	433
---	------------

CONTENTS

CHEMICAL SCIENCES

- Afonin E.G.** EDTA electrolytes for the deposition of antimony coatings..... 294
- Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A., Shurygin M.G.** Synthetic components of hydrogels in tissue engineering..... 305
- Grabelnykh V.A., Sosnovskaya N.G., Istomina A.A., Albanov A.I., Korchevin N.A., Istomina N.V., Rozentsveig I.B.** Condensation of 2-chloropyridinium chloride with thiourea: Structure of the resulting product and its use as a brightener in nickel plating electrolytes..... 318
- Farion I.A.** Theoretical study of carbocation derivatives of ethylene glycol vinyl glycidyl ether via the semiempirical Parametric Method 3..... 328

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

- Shcherbakova Y.V., Akhmadullina F.Yu., Sirotkin A.S.** Prospects for biomonitoring in the quality assessment of casein dairy raw materials..... 337
- Kashcheyeva E.I., Budaeva V.V., Zolotukhin V.N.** Comparative evaluation of enzyme cocktails for conversion of pretreated oat hulls..... 347
- Tarasov S.S., Mikhalev E.V., Krutova E.K.** Extract from spent oyster mushroom substrate: Composition, and regulatory and protective activity on germinating wheat seeds..... 357
- Imidoeva N.A., Malygina E.V., Belyshenko A.Yu., Vavilina T.N., Shelkovnikova V.N., Dmitrieva M.E., Morgunova M.M., Telnova T.Yu., Batalova A.A., Axenov-Gribanov D.V.** Antagonistic activity of fungal symbionts associated with black truffle..... 370
- Galimzyanova R.Yu., Perushkina E.V., Lisanevich M.S., Ali E.** Properties of nonwoven fabric modified with chitosan solution..... 377
- Sysoeva M.A., Prozorova I.Sh., Sysoeva E.V.** Culture medium composition influences mycelial growth and metabolite biosynthesis of *Daedaleopsis tricolor*..... 385
- Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Farafonova M.S., Deineka L.A., Chulkov A.N.** Sorption process for the decaffeination of mate beverage..... 395
- Strekalovskaya E.I., Belovezhets L.A.** Non-conventional yeast *Meyerozyma guilliermondii* strain Y-780 as a protein producer in the submerged fermentation of sawmill waste hydrolysate..... 403

CHEMICAL TECHNOLOGY

- Gonenko N.P., Raskulova T.V., Kanitskaya L.V., Kuzora I.E., Kononov N.P.** Synthesis and evaluation of pour-point depressants for diesel fuels based on ethylene – styrene copolymers..... 412
- Korotkova T.G., Zakolyukina A.M., Bushumov S.A.** Sorption kinetics of phosphates by a calcined sorbent from ash and slag waste..... 423

BRIEF COMMUNICATION

- Kozhemyakin D.S., Kamenskaya E.P., Vitovskaya V.P.** Efficiency of culturing protein-producing microorganisms in the hydrolysates of brewer's spent grain..... 433

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Обзорная статья
УДК 621.357.7+669.757+661.745
EDN: IUCBVE
DOI: 10.21285/achb.997



Этилендиаминтетраацетатные электролиты для получения покрытий сурьмой

Е.Г. Афонин

Калужский научно-исследовательский институт телемеханических устройств,
Калуга, Российская Федерация

Аннотация. Покрытия сурьмой недороги и используются вместо олова при производстве печатных плат, для замены токсичного кадмия с целью защиты стальных деталей от коррозии в морских условиях, для получения защитно-декоративных покрытий с высокой отражательной способностью, для создания различных контактов в полупроводниковых изделиях, при производстве литий-ионных батарей, а также в других целях. В статье рассмотрены известные из научно-технической и патентной литературы составы и некоторые технологические характеристики водных растворов для электрохимического и химического (с помощью восстановителя) получения покрытий сурьмой, содержащих этилендиаминтетраацетат-ион $[(\text{OOCCH}_2)_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COO})_2]^{4-}$ в качестве лиганда для связывания сурьмы(+3) в комплексы. Этилендиаминтетраацетатные электролиты отличаются высокой рассеивающей способностью и дают возможность получать качественные блестящие коррозионностойкие покрытия сурьмой. Например, из электролита с pH 0,5–0,7, содержащего 50–70 г/дм³ трихлорида сурьмы, 20–30 г/дм³ дигидрата этилендиаминтетраацетата(2-) натрия, 3,5–4,5 г/дм³ добавки ОП-10, 1,5–2,5 г/дм³ добавки выравниватель А, при температуре 18–25 °С, катодной плотности тока 1,5–5,0 А/дм² с выходом по току 97,6–100,0% со скоростью 18,0–19,2 мкм/ч получают светлые серебристые блестящие довольно твердые коррозионностойкие покрытия сурьмой с дефектной ромбоздрической структурой толщиной до 100 мкм; рассеивающая способность электролита составляет 76–81%. Этилендиаминтетраацетатные электролиты сурьмирования характеризуются сравнительно низкой токсичностью. В обзоре также представлены литературные данные о комплексобразовании сурьмы(+3) с этилендиаминтетраацетат-ионом в водном растворе и о структурах кристаллических этилендиаминтетраацетатов сурьмы(+3).

Ключевые слова: гальваническое сурьмирование, химическое сурьмирование, этилендиаминтетраацетатный электролит, химический состав электролита, комплексобразование, структура комплекса

Для цитирования: Афонин Е.Г. Этилендиаминтетраацетатные электролиты для получения покрытий сурьмой // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 294–304. DOI: 10.21285/achb.997. EDN: IUCBVE.

CHEMICAL SCIENCES

Review article

EDTA electrolytes for the deposition of antimony coatings

Evgeniy G. Afonin

Kaluga Research Institute of Telemechanical Devices, Kaluga, Russian Federation

Abstract. Antimony coatings serve as a cost-effective alternative to tin in manufacturing printed circuit boards, a replacement for toxic cadmium in protecting steel components from marine corrosion, and a means of producing protective-decorative coatings with high reflectivity. These coatings also find application in semiconductor contacts, lithium-ion battery production, and other applications. This review examines the compositions and key process characteristics of aqueous solutions used for the electrochemical and electroless deposition of antimony coatings. These compositions contain the EDTA ion $[(\text{OOCCH}_2)_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COO})_2]^{4-}$, which functions as a ligand, thereby binding antimony(+3) into complexes. EDTA-based electrolytes are characterized by high

© Афонин Е.Г., 2025

throwing power and their ability to yield high-quality, bright, and corrosion-resistant antimony coatings. A typical formulation, for instance, operates at a pH of 0.5–0.7 and contains 50–70 g/dm³ antimony trichloride, 20–30 g/dm³ disodium ethylenediaminetetraacetate dihydrate, 3.5–4.5 g/dm³ of OP-10 additive, and 1.5–2.5 g/dm³ of leveling agent A. Under operating conditions of 18–25 °C and a cathode current density of 1.5–5.0 A/dm², these electrolytes yield light, silvery, bright, and relatively hard coatings. The deposition process is carried out with a current efficiency of 97.6–100.0% and a rate of 18.0–19.2 μm/h. The obtained coatings, with a thickness of up to 100 μm, possess a defective rhombohedral structure. The throwing power of the electrolyte under these conditions is 76–81%. A further advantage of these electrolytes is their relatively low toxicity. In addition, the review summarizes literature data on the complex formation of antimony(+3) with the EDTA ion in aqueous solution and on the structures of crystalline antimony(+3) ethylenediaminetetraacetates.

Keywords: antimony electrodeposition, antimony electroless plating, ethylenediaminetetraacetate electrolyte, chemical composition of electrolyte, complex formation, complex structure

For citation: Afonin E.G. EDTA electrolytes for the deposition of antimony coatings. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):294-304. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.997. EDN: IUCBBE.

ВВЕДЕНИЕ

Покрытия сурьмой обладают высокой коррозионной стойкостью в солевых растворах и в атмосфере с высокой влажностью, на воздухе не тускнеют, не сохраняют следов прикосновения руками, легко полируются, хорошо отражают свет, имеют декоративный вид, но могут быть хрупкими и иметь малую прочность на разрыв^{1–3} [1–3].

Электрохимические (гальванические) и химические покрытия сурьмой могут применяться для частичной замены олова при производстве печатных плат, так как они легко поддаются пайке, а также вместо токсичного кадмия с целью защиты деталей из стали и сплавов цинка от коррозии в морских условиях, для создания омических и выпрямляющих контактов в полупроводниковых изделиях, для производства анодов литий-ионных батарей и в других целях^{1–3} [1–4].

Для получения гальванических покрытий сурьмой используют несколько видов водных электролитов: фторидные, хлоридные, бромидные, иодидные, сульфатные, сульфатно-цианидные, фторидно-сульфатные, фторидно-тарtratные, фторидно-моноэтаноламиновые, фторидно-гликолятные, фторидно-лактатные, фторидно-хлоридно-сульфатные, тетрафтороборатные, аммиакатные, сульфидные, дифосфатные, гликолятные, лактатные, глицератные, тарtratные, цитратные, цитратно-глюконатные, тарtratно-цитратные, этилендиаминтетраацетатные и некоторые другие^{1–8} [1–35].

В настоящей работе приведен обзор одного из видов электролитов для получения гальванических и химических покрытий сурьмой, которые содержат комплексные соединения этого металла с этилендиаминтетраацетат-ионами [(OOCCH₂)₂NCH₂CH₂N(CH₂COO)₂]⁴⁻ (ЭДТА⁴⁻) – этилендиаминтетраацетатных электролитов [16, 17, 27, 30, 31, 34]. Ранее опубликован обзор составов этилендиаминтетраацетатных электролитов для получения покрытий висмутом⁹.

КОМПЛЕКСЫ СУРЬМЫ(+3) С ЭТИЛЕНДИАМИНТЕТРААЦЕТАТ-ИОНОМ В ВОДНОМ РАСТВОРЕ И В ТВЕРДОЙ ФАЗЕ

Количественные результаты изучения комплексообразования сурьмы(+3) с этилендиаминтетраацетатной кислотой (H₄ЭДТА) в водном растворе [36–43] противоречивы. Наиболее вероятно, что протонированный комплекс [Sb(HЭДТА)] образуется уже в сильноокислой среде, средний комплекс [Sb(ЭДТА)]⁻ (lg K_{уст.} ≈ 19 [41]) существует при pH 1,8–3,0, а гидроксокомплексы [SbOH(ЭДТА)]²⁻ (pH 4,0–5,5) и [Sb(OH)₂(ЭДТА)]³⁻ (pH 5,7–7,0) гидролизуются при pH выше 6,0 и полностью разрушаются при pH выше 7,0 с выпадением осадка Sb(OH)₃ [36, 40].

Известны структуры довольно большого числа кристаллических этилендиаминтетраацетатов сурьмы(+3)¹⁰ [44–64]: [Sb(HЭДТА)]•2H₂O, M'Sb(ЭДТА)•nH₂O (M' = Li, Na, K, Rb, Cs, Tl, NH₄, N(CH₃)₄, 1/2H₃NCH₂CH₂NH₃, CH₆N₃,

¹Геворкян В.М. Электролитическое сурьмирование: дисс. ... канд. техн. наук: 05.00.00. М., 1958. 239 с.

²Гальванические покрытия в машиностроении: справочник / В.И. Игнатъев, Н.С. Ионичева, А.В. Марейчев, Н.Ф. Мелашенко, С.С. Плетенев, А.Я. Рябой [и др.]; под ред. М.А. Шлугера. В 2 т. Т. 1. М.: Машиностроение, 1985. 240 с.

³Беленький М.А., Иванов А.Ф. Электроосаждение металлических покрытий: справочник. М.: Металлургия, 1985. 288 с.

⁴Полное руководство к осаждению металлов гальваническим путем: гальваностегия, гальванопластика, осаждение металлов соприкосновением и погружением, гальваническое окрашивание металлов, шлифование и полирование их / Г. Лангбейн. СПб.: Тип. Я. Трей, 1895. 449 с.

⁵Ямпольский А.М. Электролитическое осаждение благородных и редких металлов: брошюра / под ред. П.М. Вячеславова. Л.: Машиностроение, 1977. 94 с.

⁶Мельников П.С. Справочник по гальванопокрытиям в машиностроении. М.: Машиностроение, 1979. 296 с.

⁷Справочник по электрохимии / под ред. А.М. Сухотина. Л.: Химия, 1981. 488 с.

⁸Афонин Е.Г. Дифосфатные растворы для получения электрохимических и химических покрытий сурьмой и ее сплавами // Новые информационные технологии в системах связи и управления: труды XX Росс. межведомств. науч.-техн. конф. (г. Калуга, 9 сентября 2021 г.). Калуга: Ноосфера, 2021. С. 495–500.

⁹Афонин Е.Г. Этилендиаминтетраацетатные электролиты для получения покрытий висмутом и его сплавами с оловом, медью, кобальтом, никелем, свинцом, кадмием, марганцем, серебром, галлием, индием, таллием, сурьмой гальваническим и химическим методами // Новые информационные технологии в системах связи и управления: труды XXII Росс. межведомств. науч.-техн. конф. (г. Калуга, 7 сентября 2023 г.). Калуга: Ноосфера, 2023. С. 392–411.

¹⁰Илюхин А.Б. Кристаллохимия комплексонов р-металлов: дисс. ... д-ра хим. наук: 02.00.01. М., 1998. 254 с.

Таблица 1. Кристаллографические данные этилендиаминтетраацетатных комплексов сурьмы(+3)

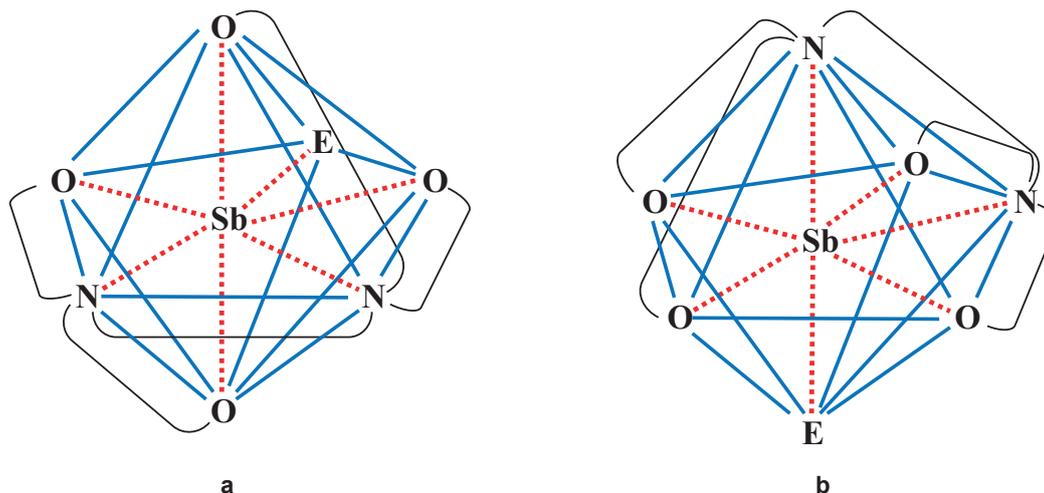
Table 1. Crystallographic data for antimony(+3) ethylenediaminetetraacetate complexes

Номер вещества	Формула вещества	Сингония	Пр. гр.	z	a, Å b, Å c, Å	α, град. β, град. γ, град.	Источник
1	SbH(ЭДТА)•2H ₂ O	Ромбическая	Pbn2 ₁ (no. 33)	4	10,98(2) 18,496(4) 7,341(9)	90 90 90	[45]
			Pna2 ₁ (no. 33)		18,4823(18) 10,9408(12) 7,3671(5) 18,479 10,957 7,343		[63]
2	LiSb(ЭДТА)•H ₂ O	Моноклиная	P2 ₁ /n	4	7,348(1) 16,833(6) 10,822(2)	90 92,84(2) 90	[48]
3	NaSb(ЭДТА)•3H ₂ O	Ромбическая	-	4	7,047(1) 20,915(3) 11,152(2)	90 90 90	[47]
					7,02(2) 20,46(5) 11,27(3)		[49]
4	KSb(ЭДТА)•H ₂ O	Моноклиная	P2 ₁ /c	4	14,214(2) 8,761(1) 12,827(2)	90 112,56(1) 90	[49]
					14,32(3) 8,80(2) 12,87(3)		
5	RbSb(ЭДТА)•H ₂ O	Моноклиная	P2 ₁ /c	4	14,73(3) 8,89(2) 13,10(3)	90 112,6(1) 90	[49]
6	CsSb(ЭДТА)•H ₂ O	Ромбическая	Pbca	8	18,066(6) 9,126(3) 18,302(6)	90 90 90	[49]
					9,13(2) 18,07(4) 18,31(4)		
7	NH ₄ Sb(ЭДТА)•H ₂ O	Моноклиная	P2 ₁ /c	4	14,420(3) 8,862(2) 12,912(4)	90 112,82(2) 90	[49]
8	TlSb(ЭДТА)	Ромбическая	Pca2 ₁	4	20,77(5) 8,91(2) 7,50(2)	90 90 90	[49]
					20,694(4) 8,861(1) 7,490(1)		[49, 52]
9	[C(NH ₂) ₃]Sb(ЭДТА)•2H ₂ O	Моноклиная	P2 ₁ /n	4	8,417(6) 17,948(2) 11,862(8)	90 90,49(3) 90	[46]
10	[C(NH ₂) ₂ NHNH ₂]Sb(ЭДТА)•H ₂ O	Моноклиная	P2 ₁ /n	4	8,2202(3) 18,2074(6) 11,9429(4)	90 93,079(1) 90	[51]
11	[N(CH ₃) ₄]Sb(ЭДТА)•2H ₂ O	Моноклиная	P2 ₁ /c	4	6,638(2) 24,410(6) 12,440(4)	90 98,10(2) 90	[52]

Афонин Е.Г. Этилендиаминтетраацетные электролиты для получения покрытий сурьмой
Afonin E.G. EDTA electrolytes for the deposition of antimony coatings

12	$[H_3NCH_2CH_2NH_3][Sb(ЭДТА)]_2 \cdot 6H_2O$	Триклинная	Pī	1	7,021(3) 8,954(3) 15,161(5)	97,70(3) 92,33(3) 109,01(3)	[52]
13	$[H_3NCH_2CH_2COOH][Sb(ЭДТА)]$	Ромбическая	Pna2 ₁	4	22,819(4) 10,771(2) 7,289(1)	90 90 90	[52]
14	$Mg[Sb(ЭДТА)]_2 \cdot 8H_2O$	Моноклинная	P2 ₁ /n	2	7,13(2) 21,30(5) 10,94(3)	90 91,09(4) 90	[49]
15	$Ca[Sb(ЭДТА)]_2 \cdot 8H_2O$	Моноклинная	P2 ₁ /n	2	7,15(2) 22,10(5) 10,92(3)	90 91,13(4) 90	[49]
					7,132(1) 21,893(3) 10,891(2)	90 91,15(2) 90	[49]
					7,132(2) 21,906(5) 10,896(3)	90 91,13(2) 90	¹⁰ , [53]
16	$Sr[Sb(ЭДТА)]_2 \cdot 8H_2O$	Моноклинная	P2 ₁ /n	2	7,13(2) 23,02(5) 10,89(3)	90 91,08(4) 90	[49]
17	$Co[Sb(ЭДТА)]_2 \cdot 8H_2O$	Моноклинная	P2 ₁ /n	2	7,13(2) 21,10(5) 10,99(3)	90 91,02(4) 90	[49]
	$Co[Sb(ЭДТА)]_2 \cdot 7,15H_2O$				6,9969(2) 20,8705(4) 10,8106(2)	90 90,031(1) 90	[57, 58]
18	$Mn[Sb(ЭДТА)]_2 \cdot 7H_2O$	Моноклинная	P2 ₁ /n	2	7,20(2) 21,10(5) 11,26(3)	90 91,70(4) 90	[49]
					7,067(1) 21,087(2) 10,902(1)	90 90,12(3) 90	[49, 52]
19	$Cd[Sb(ЭДТА)]_2 \cdot 8H_2O$	Моноклинная	P2 ₁ /n	2	7,33(2) 20,91(5) 10,88(3)	90 91,11(4) 90	[49]
					7,252(1) 21,040(2) 10,894(2)	90 91,00(2) 90	[49, 52]
20	$Pr[Sb_2(ЭДТА)_2]NO_3 \cdot 9H_2O$	Ромбическая	Pnn2	2	10,7031(2) 23,0805(4) 7,2343(2)	90 90 90	[56]
21	$Sm[Sb_2(ЭДТА)_2]NO_3 \cdot 7,55(8)H_2O$	Моноклинная	Pn (no. 7)	2	7,2094(12) 22,652(4) 10,6553(19)	90 90,554(2) 90	[60]
22	$Gd[Sb_2(ЭДТА)_2]NO_3 \cdot 7H_2O$	Моноклинная	-	-	11,259 9,689 20,489	90 94,099 90	[61]
23	$Ho[Sb_2(ЭДТА)_2]NO_3 \cdot 7,6H_2O$	Моноклинная	Pn (no. 7)	2	7,2389(13) 22,164(4) 10,633(2)	90 90,800(2) 90	[59]
24	$Er[Sb_2(ЭДТА)_2]NO_3 \cdot 8H_2O$	Моноклинная	Pn (no. 7)	2	7,3790(10) 22,116(5) 10,661(3)	90 90,55(2) 90	[64]

Примечание. Пр. гр. – пространственная группа симметрии; z – число формульных единиц в элементарной ячейке.



ψ -Пентагонально-бипирамидальные координационные полиэдры катиона Sb^{3+} с экваториальным (а) или аксиальным (b) расположением неподеленной электронной пары E катиона Sb^{3+} в кристаллических этилендиаминтетраацетатах сурьмы(+3) (сплошные линии – ребра полиэдра SbN_2O_4E , пунктирные линии – координационные связи Sb^{3+} с атомами O и N аниона $EDTA^{4-}$, кривые линии – ковалентные связи во фрагментах аниона $EDTA^{4-}$)

ψ -Pentagonal bipyramid coordination polyhedra of antimony(+3) with the lone electron pair E in the equatorial (a) and in the axial (b) positions in the antimony(+3) ethylenediaminetetraacetate crystals (solid lines are edge of SbN_2O_4E polyhedra, dotted lines are coordination bonds of Sb^{3+} with O and N atoms of $EDTA^{4-}$ anion, curved lines are covalent bonds in the $EDTA^{4-}$ anion)

CH_7N_4 , $H_3NCH_2CH_2COOH$, $M^{II}(H_2O)_n[Sb(EDTA)]_2 \cdot mH_2O$ ($M^{II} = Mg, Ca, Sr, Co, Cd, Mn$), $M^{III}(H_2O)_n[Sb(EDTA)]_2NO_3 \cdot mH_2O$ ($M^{III} = Pr, Sm, Eu, Gd, Tb, Ho, Er$) (табл. 1). Во всех этилендиаминтетраацетатах сурьмы(+3) имеется стереохимически активная неподеленная пара электронов E . В протонированном этилендиаминтетраацетате сурьмы(+3) $[Sb(H_2EDTA)] \cdot 2H_2O$ [63] координационный полиэдр SbN_2O_4E имеет форму искаженной тригональной бипирамиды и образован двумя атомами азота, тремя атомами кислорода трех карбоксилатных групп одного аниона (H_2EDTA)³⁻ и неподеленной электронной парой атома сурьмы(+3), при этом карбоксильная группа не образует прочной связи с Sb^{3+} . Средние этилендиаминтетраацетатные комплексы сурьмы(+3) либо имеют островное строение, либо устроены как три- или полиядерные комплексы (см. табл. 1). Во всех комплексах этилендиаминтетраацетат(4-) по отношению к Sb^{3+} является гексадентатным лигандом, связываясь с центральным ионом двумя атомами азота и четырьмя атомами кислорода четырех карбоксилатных групп, а координационный полиэдр SbN_2O_4E имеет форму ψ -пентагональной бипирамиды. Неподеленная электронная пара катиона Sb^{3+} занимает чаще всего экваториальное положение (рисунок, а) (2–5, 7, 8, 12–24) (см. табл. 1) за исключением комплексов (6, 9–11) (см. табл. 1), где она находится в аксиальной позиции (рисунок, b).

Можно предположить, что в сильнокислом водном растворе комплекс $[Sb(H_2EDTA)]$ устроен примерно так же, как в кристаллическом $SbH(EDTA) \cdot 2H_2O$ [63], а в слабокислом водном растворе анион $[Sb(EDTA)]^-$ имеет строение, близкое к его строению в кристаллических средних комплексах с однозарядными внешнесферными катионами $MSb(EDTA) \cdot nH_2O^{10}$ [47, 49, 52]. Неподеленная электронная пара катиона Sb^{3+} в этих

комплексах может играть существенную роль в процессах электрохимического осаждения металлической сурьмы на катоде из этилендиаминтетраацетатных электролитов [65–67].

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ВОДНЫХ ЭТИЛЕНДИАМИНТЕТРААЦЕТАТНЫХ ЭЛЕКТРОЛИТОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ГАЛЬВАНИЧЕСКИХ ПОКРЫТИЙ СУРЬМОЙ

В водных растворах сурьма существует в форме соединений со степенями окисления +3 и +5; электролиты для получения покрытий сурьмой гальваническим методом, в том числе и этилендиаминтетраацетатные электролиты, содержат только сурьму(+3). Стандартный электродный потенциал Sb по отношению к Sb^{3+} равен +0,24 В^{3,7}.

Изучено электрохимическое восстановление сурьмы(+3) в сернокислом растворе в присутствии этилендиаминтетраацетата [68].

Сведения об этилендиаминтетраацетатных электролитах сурьмирования имеются в работах [16, 17, 27, 30, 31, 34] (табл. 2). В электролите (1) (см. табл. 2), разработанном В.В. Поветкиным, Т.Г. Шиблевой и др., только часть сурьмы(+3) связана в комплекс с этилендиаминтетраацетатом, другая ее часть удерживается в сильнокислом растворе в форме частично гидролизованных аква-ионов. В электролитах (2–4) (см. табл. 2) сурьма(+3) находится в форме только этилендиаминтетраацетатного комплекса, а в полилигандном электролите (5) (см. табл. 2) в дополнение к этилендиаминтетраацетату добавлены значительные количества цитрата и тартрата, что обеспечивает гомогенность слабокислого электролита сурьмирования, который создал К.Ф. Сمارт [16, 17].

Таблица 2. Химический состав и некоторые технологические характеристики этилендиаминтетраацетатных электролитов гальванического сурьмирования и свойства покрытий сурьмой

Table 2. Chemical composition and some technological characteristics of ethylenediaminetetraacetate electrolytes for antimony electrodeposition and properties of coatings

Номер электролита	Компоненты электролита	Концентрации компонентов, г/дм ³	pH	t, °C	i _к , А/дм ²	Свойства электролита и покрытия сурьмой	Источник
1	SbCl ₃ Этилендиаминтетраацетат(2-) натрия ОП-10 Выравниватель А	50–70 20–30 3,5–4,5 1,5–2,5	0,5–0,7	18–25	1,5–5,0	Светлые серебристые блестящие коррозионностойкие покрытия сурьмой толщиной до 100 мкм с микротвердостью 1860–2470 МПа. Катодный выход по току – 97,6–100%. Рассеивающая способность электролита – 76–81%. Скорость покрытия – 0,30–0,32 мкм/мин	[27, 30]
2	Тартрат калия – сурьмы Этилендиаминтетрауксусная кислота Гипофосфит натрия H ₃ BO ₃ HCl	6 40 60 40 До pH 1,5	1,5	10–40	–	Однородные покрытия сурьмой	[34]
3	Тартрат калия – сурьмы Этилендиаминтетрауксусная кислота Гипофосфит натрия H ₃ BO ₃ SnBr ₄ HCl	6 40 60 40 2 До pH 1,5	1,5	10–40	–	Однородные покрытия сурьмой	[34]
4	Тартрат калия – сурьмы Этилендиаминтетрауксусная кислота Гипофосфит натрия H ₃ BO ₃ SnBr ₄ Винная кислота Тартрат натрия HCl	6 40 60 40 2 2 1 До pH 1,5	1,5	10–40	–	Однородные покрытия сурьмой	[34]
5	Тартрат калия – сурьмы Этилендиаминтетраацетат(4-) натрия Цитрат(2-) аммония	10–80 30–60 80–200	4,0–6,0	20–52	0,54–5,4	Твердые гладкие блестящие коррозионноустойчивые покрытия сурьмой на сталь, железо, медь, свинец, олово, никель, цинк, кадмий и другие металлы	[16, 17]

Примечание. t – рабочая температура электролита; i_к – катодная плотность тока. ОП-10 – полиэтиленгликолевые эфиры высокомолекулярных моно- и диалкилфенолов по ГОСТ 8433-81¹¹. Выравниватель А – смесь метилбензолсульфонатов диэтиламинотетраметильных производных продуктов обработки моно- и диалкилфенолов оксидом этилена по ГОСТ 9600-78¹².

¹¹ГОСТ 8433-81. Вещества вспомогательные ОП-7 и ОП-10. Технические условия. М.: Издательство стандартов, 1981. 16 с.

¹²ГОСТ 9600-78. Вещества текстильно-вспомогательные. Выравниватель А. Технические условия. М.: Издательство стандартов, 1978. 7 с.

СОСТАВ ВОДНОГО ЭТИЛЕНДИАМИНТЕТРААЦЕТАТНОГО РАСТВОРА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО ПОКРЫТИЯ СУРЬМОЙ

Водный раствор с концентрациями хлорида сурьмы(+3) 0,08 моль/дм³, этилендиаминтетраацетата натрия 0,08 моль/дм³, цитрата натрия 0,32 моль/дм³, аминотриацетата натрия 0,10 моль/дм³ и восстановителя хлорида титана(+3) 0,04 моль/дм³ позволяет при pH 6,5–8,5 и температуре 20 °C получать химические покрытия сурьмой на поверхности активированного палладием(+2) непроводящего материала [69].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенного обзора выявлено, что кислые этилендиаминтетраацетатные электролиты и полилигандные электролиты, содержащие этилендиаминтетраацетат, стабильны в работе, имеют

высокую рассеивающую способность и позволяют получать качественные мелкокристаллические блестящие покрытия сурьмой с высокой коррозионной стойкостью и повышенной микротвердостью. Могут оказаться интересными новые электролиты сурьмирования, содержащие билигандные и полилигандные композиции этилендиаминтетраацетата, например с гликолевой, молочной, яблочной, аминокусусной, глутаминовой кислотами. Одним из преимуществ этилендиаминтетраацетатных электролитов сурьмирования является их относительно низкая токсичность [70].

При исследовании механизма электроосаждения сурьмы из комплексных этилендиаминтетраацетатных электролитов следует учитывать возможность специфической адсорбции комплексов на катоде и участие неподеленной электронной пары сурьмы(+3) в электрохимических процессах.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Барта Д., Мудрох О. Технология химической и электрохимической обработки поверхностей металлов. М.: Машгиз, 1961. 712 с.
2. Коровин Н.В. Новые покрытия и электролиты в гальванотехнике. М.: Металлургиздат, 1962. 135 с.
3. Соловьева З.А., Солодкова Л.Н. Электроосаждение сурьмы и ее сплавов // Итоги науки и техники. Электрохимия. М.: Изд-во ВИНТИ, 1972 Т. 8. С. 215–272.
4. Bryngelsson H., Eskhult J., Edström K., Nyholm L. Electrodeposition and electrochemical characterization of thick and thin coatings of Sb and Sb/Sb₂O₃ particles for Li-ion battery anodes // *Electrochimica Acta*. 2007. Vol. 53, no. 3. P. 1062–1073. DOI: 10.1016/j.electacta.2007.02.009.
5. Patent no. 100038, USA. Improvement in electroplating with antimony / J.S. Howard, E. Adams Jr., T.E. Grover, N. Carpenter. Appl. 22.02.1870; publ. 22.02.1870.
6. Patent no. 792307, USA. Process of electrodeposition of antimony / A.G. Betts. Appl. 20.05.1904; publ. 13.06.1905.
7. Patent no. 130302, GB. An electrolytic process for coating iron or steel with lead or antimony or an alloy of lead and antimony / Q. Marino, C. Bowen. Appl. 29.04.1918; publ. 29.07.1919.
8. Ghosh J.C., Kappana A.N. Electrodeposition of antimony // *The Journal of Physical Chemistry*. 1924. Vol. 28, no. 2. P. 149–160. DOI: 10.1021/j150236a005.
9. Patent no. 559164, GB. Improvements in or relating to the electrodeposition of antimony / M.C. Bloom. Publ. 1942.
10. Patent no. 2389131, USA. Electrodeposition of antimony / M.C. Bloom. Appl. 28.07.1941; publ. 20.11.1945.
11. Patent no. 2515192, USA. Method of electroplating / A.E. Chester. Publ. 18.07.1950.
12. Patent no. 2683114, USA. Electrodeposition of antimony / J.D. Little. Appl. 04.12.1952; publ. 06.07.1954.
13. Patent no. 2711010, USA. Electrodeposition of antimony / W.P. Karash. Publ. 1955.
14. Patent no. 2715096, USA. Antimony plating / D.G. Burnside. Appl. 22.01.1953; publ. 09.08.1955.
15. Patent no. 2721836, USA. Electrodeposition of antimony / A.H. Du Rose. Appl. 07.08.1952; publ. 25.10.1955.
16. Patent no. 737713, GB. Improvements in or relating to the electro-deposition of lead and antimony and alloys thereof / C.F. Smart. Appl. 11.05.1953; publ. 28.09.1955.
17. Patent no. 2750333, USA. Electrodeposition of antimony and antimony alloys / C.F. Smart. Appl. 03.06.1952; publ. 12.06.1956.
18. Patent no. 2753299, USA. Electrodeposition with antimony / R.A. Ehrhardt. Appl. 23.04.1953; publ. 03.07.1956.
19. Patent no. 2779725, USA. Antimony plating bath / C.F. Smart. Publ. 1957.
20. Patent no. 2801959, USA. Alkaline antimony plating / A.H. Du Rose. Appl. 03.12.1953; publ. 06.08.1957.
21. Patent no. 2813065, USA. Heterocyclic nitrogen compound containing antimony plating solutions and process / A.H. Du Rose. Publ. 1957.
22. Patent no. 2817629, USA. Antimony plating bath / C.F. Smart. Appl. 23.10.1953; publ. 24.12.1957.
23. Patent no. 2823176, USA. Antimony plating bath and process / E.R. Breining, F. Nixon, W.R. Vincent. Publ. 1958.
24. Patent no. 2918414, USA. Antimony plating process / G.R. Schaer. Appl. 17.08.1956; publ. 22.12.1959.
25. Patent no. 2918415, USA. Antimony plating process / G.R. Schaer. Appl. 17.08.1956; publ. 22.12.1959.
26. А.с. № 142489, СССР. Способ электролитического сурьмирования металлов / В.М. Геворкян. Заявл. 05.03.1955; опубл. 1961.
27. Шиблева Т.Г., Поветкин В.В., Захаров М.С. Структура и свойства сурьмы, электроосажденной из растворов с трилоном Б // *Защита металлов*. 1985. N 6. С. 974–976.
28. Sadana Y.N., Singh J.P., Kumar R. Electrodeposition of antimony and antimony alloys – a review // *Surface Technology*. 1985. Vol. 24, no. 4. P. 319–353. DOI: 10.1016/0376-4583(85)90053-6.
29. Abd El Rehim S.S., Awad A., El Sayed A. Electroplating of antimony and antimony-tin alloys // *Journal of Applied Electrochemistry*. 1987. Vol. 17. P. 156–164. DOI: 10.1007/BF01009142.
30. А.с. № 1220387, СССР, C25D3/54. Электролит для осаждения сурьмы / Т.Г. Шиблева, В.В. Поветкин, М.С. Захаров. Заявл. 21.04.1984; опубл. 27.02.1996.
31. Шиблева Т.Г., Поветкин В.В. Электроосаждение сурьмы из трилонатных растворов // *Известия высших учебных заведений. Серия Химия и химическая технология*. 2001. Т. 44. N 6. С. 127–129.

32. Patent no. 6409906, USA. Electroplating solution for plating antimony and antimony alloy coatings / C.M. Aoun. Appl. 25.10.2000; publ. 25.06.2002.
33. Patent no. 5142571, Japan. Electroplating bath of antimony or its alloys / B. Ro, T. Arai, T. Yamamoto. Publ. 2013.
34. Patent no. 109778259, China. A kind of antimony electroplating solution and preparation method thereof. Publ. 2020.
35. Куликова Д.И. Особенности электроосаждения сурьмы из водных растворов // Вестник Технологического университета. 2020. Т. 23. N 12. С. 9–11. EDN: ONQOQH.
36. Bhat T.R., Iyer R.K. Studies on EDTA complexes: V. Antimony(III) and bismuth(III) EDTA system // Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie. 1965. Vol. 335, no. 5–6. P. 331–336. DOI: 10.1002/zaac.19653350513.
37. Wang E., Chang J. Polarographic study of antimony(III) complex with ethylenediaminetetra-acetic acid // Acta Chimica Sinica. 1965. Vol. 31, no. 1. P. 18–28.
38. Anderegg G., Malik S. Komplexe XVIII. Die komplexe des dreiwertigen antimons mit polyaminocarboxylaten // Helvetica Chimica Acta. 1970. Vol. 53, no. 3. P. 564–569. DOI: 10.1002/hlca.19700530313.
39. Özer U.Y., Bogucki R.F. Equilibrium studies of antimony(III) chelates in aqueous solution // Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry. 1971. Vol. 33, no. 12. P. 4143–4153. DOI: 10.1016/0022-1902(71)80514-6.
40. Anderegg G. Critical survey of stability constants of EDTA complexes. Oxford – New York – Toronto – Sydney – Paris – Frankfurt: Pergamon Press, 1977. 42 p.
41. Wang E. Polarographic electrode process of antimony(III) complexes with complexones // Collection of Czechoslovak Chemical Communications. 1982. Vol. 47, no. 12. P. 3243–3251. DOI: 10.1135/cccc19823243.
42. Filella M., May P.M. Critical appraisal of available thermodynamic data for the complexation of antimony(III) and antimony(V) by low molecular mass organic ligands // Journal of Environmental Monitoring. 2005. Vol. 7, no. 12. P. 1226–1237. DOI: 10.1039/B511453E.
43. Kolbe F., Mattusch J., Wennrich R., Weiss H., Sorkau E., Lorenz W., et al. Analytical investigations of antimony-EDTA complexes and their use in speciation analysis // Fresenius Environmental Bulletin. 2012. Vol. 21, no. 11c. P. 3453–3458.
44. Kita I., Uehiro T., Iwamoto T., Ouchi A., Yoshino Y. Molecular structure of ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetato complex of antimony(III): $\text{HSb}(\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ // Chemistry Letters. 1976. Vol. 5, no. 4. P. 333–334. DOI: 10.1246/cl.1976.333.
45. Shimoi M., Orita Y., Uehiro T., Kita I., Iwamoto T., Ouchi A., et al. The structure of (Hydrogen ethylenediaminetetraacetato)antimony(III) dihydrate $\text{Sb}(\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_8) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ // Bulletin of the Chemical Society of Japan. 1980. Vol. 53, no. 11. P. 3189–3194. DOI: 10.1246/bcsj.53.3189.
46. Мистрюков В.Э., Сергеев А.В., Михайлов Ю.Н., Щелоков Р.Н. Синтез и кристаллическая структура $(\text{CN}_3\text{H}_6)[\text{Sb}(\text{ЭДТА})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ // Координационная химия. 1987. Т. 13. N 8. С. 1129–1131.
47. Xie Z., Hu S. Crystal structure of sodium ethylenediaminetetraacetatoantimony(III) trihydrate $\text{Na}[\text{Sb}(\text{EDTA})] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ // Chinese Journal of Structural Chemistry. 1991. Vol. 10, no. 2. P. 129–131.
48. Marrot B., Brouca-Cabarrecq C., Mosset A. $\text{LiSb}(\text{edta})$ (H_2O): a convenient precursor to LiSbS_2 and LiSbO_3 // Journal of Materials Chemistry. 1996. Vol. 6, no. 5. P. 789–793. DOI: 10.1039/JM9960600789.
49. Давидович Р.Л., Логвинова В.Б., Кайдалова Т.А. Этилендиаминтетраацетатные комплексные соединения сурьмы(III) с одно- и двухзарядными катионами // Координационная химия. 1998. Т. 24. N 6. С. 424–430.
50. Marrot B., Brouca-Cabarrecq C., Mosset A. $[\text{CaSb}_2(\text{EDTA})_2(\text{H}_2\text{O})_8]_n$: synthesis, crystal structure, and thermal behavior // Journal of Chemical Crystallography. 1998. Vol. 28. P. 447–452. DOI: 10.1023/A:1021716605217.
51. Fun H.K., Raj S.S.S., Razak I.A., Ilyukhin A.B., Davidovich R.L., Huang J.W., et al. Aminoguanidinium (ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetato)antimonite(III) monohydrate // Acta Crystallographica Section C. 1999. Vol. 55. P. 905–907. DOI: 10.1107/S0108270199002310.
52. Ilyukhin A.B., Davidovich R.L. Effect of a cation on stereochemical activity of lone electron pair in structures of ethylenediaminetetraacetatoantimonates(III), $\text{Cat}[\text{Sb}(\text{EDTA})] \cdot x\text{H}_2\text{O}$ [$\text{Cat}^+ = \text{Cs}, \text{NMe}_4, 1/2[\text{H}_2\text{en}], \text{NH}_4, \text{Tl}, \text{K}, 1/2\text{Mn}, 1/2\text{Cd}, \text{or } \text{NH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$] // Crystallography Reports. 1999. Vol. 44, no. 2. P. 204–213.
53. Ilyukhin A.B., Poznyak A.L. Stereochemical activity of a lone electron pair in antimony(III) and bismuth(III) chelates: crystal structures of $\text{Ca}[\text{Sb}(\text{Edta})]_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ and $\text{Ba}\{\{\text{Bi}(\text{Edta})\}_2\text{H}_2\text{O}\} \cdot \text{H}_2\text{O}$ // Crystallography Reports. 2000. Vol. 45, no. 1. P. 56–63. DOI: 10.1134/1.171137.
54. Давидович Р.Л. Комплексоны сурьмы(III) и висмута(III). Владивосток: Дальнаука, 2003. 192 с.
55. Hu S., Chen M. Study on the secondary bonding and coordination polyhedra in crystal of antimony(III) complexonate family // Acta Physico-Chimica Sinica. 2005. Vol. 21, no. 6. P. 646–652. DOI: 10.3866/PKU.WHXB20050614.
56. Shen J., Jiang Q.-Y., Zhong G.-Q., Jia Y.-Q., Yu K.-B. Synthesis, crystal structure and thermal decomposition of a novel 3D heterometallic Sb(III)-Pr(III) complex $[\text{Sb}_2-\mu_4-(\text{EDTA})_2\text{Pr}(\text{H}_2\text{O})_5]\text{NO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ // Acta Chimica Sinica. 2007. Vol. 65, no. 16. P. 1588–1592.
57. Zhong G.Q., Shen J., Jiang Q.Y., Jia Y.Q., Chen M.J., Zhang Z.P. Synthesis, characterization and thermal decomposition of $\text{Sb}^{\text{III}}-\text{M}-\text{Sb}^{\text{III}}$ type trinuclear complexes of ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetate (*M*: Co(II), La(III), Nd(III), Dy(III)) // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. 2008. Vol. 92. P. 607–616. DOI: 10.1007/s10973-007-8579-5.
58. Zhong G., Shen J., Jiang Q., Yu K. Synthesis and structural determination of a novel heterometallic complex $[\text{Sb}_2(\text{EDTA})_2-\mu_4-\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 5,15\text{H}_2\text{O}$ // Chinese Journal of Chemistry. 2011. Vol. 29, no. 12. P. 2650–2654. DOI: 10.1002/cjoc.201100394.
59. Shen J., Jin B., Jiang Q., Zhong G., Hu Y., Huo J. Synthesis, characterization, and magnetic properties of heterometallic trinuclear complex with Sb(III) and Ho(III) // Inorganica Chimica Acta. 2012. Vol. 385. P. 158–163. DOI: 10.1016/j.ica.2012.01.045.
60. Shen J., Jin B., Jiang Q.-Y., Zhong G.-Q., Hu Y.-M., Huo J.-C. Edta-linked 5p-4f trinuclear heterometallic complex: syntheses, X-ray structure and luminescent properties // Journal of Coordination Chemistry. 2012. Vol. 65, no. 17. P. 3040–3049. DOI: 10.1080/00958972.2012.709628.
61. Wu Z.-X., Zhong G.-Q. Synthesis and characterization of the trinuclear heterometallic complex

[Sb₂(edta)₂Gd(H₂O)₄]NO₃•3H₂O // *Journal of Synthetic Crystals*. 2013. Vol. 42, no. 8. P. 1707–1711.

62. Shen J., Jin B., Jiang Q.-Y., Zhong G.-Q., Hu Y.-M., Huo J.-C. Synthesis, structures, luminescent and magnetic properties of heterometallic 5p-4f compounds with ethylenediaminetetraacetate // *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*. 2013. Vol. 639, no. 1. P. 89–95. DOI: 10.1002/zaac.201200401.

63. Li D., Zhong G.-Q. Synthesis and crystal structure of the bioinorganic complex [Sb(Hedta)]•2H₂O // *Bioinorganic Chemistry and Applications*. 2014. P. 461605. DOI: 10.1155/2014/461605.

64. Liu T., Yang R.-G., Zhong G.-Q. Synthesis, structural characterization, and antibacterial activity of novel erbium(III) complex containing antimony // *Bioinorganic Chemistry and Applications*. 2018. P. 4313197. DOI: 10.1155/2018/4313197.

65. Березин Н.Б., Гудин Н.В., Филиппова А.Г., Чевела В.В., Межевич Ж.В., Яхьяев Э.Д. [и др.]. Электроосаждение металлов и сплавов из водных растворов комплексных соединений: монография. Казань: Изд-во КГТУ, 2006. 276 с.

66. Березин Н.Б., Березина Т.Н. Общие закономерности катодного восстановления комплексов металлов и их анодного формирования // *Бутлеровские сообщения*. 2009. Т. 17. N 6. С. 1–12. EDN: NCZXAB.

67. Гудин Н.В. Роль структурных факторов при электроосаждении металлов из растворов их комплексов // *Вестник Технологического университета*. 2016. Т. 19. N 9. С. 10–18. EDN: VVVKLP.

68. Qi Y., Liu X., Wang W. Electrochemical reduction of Bi(III)/Sb(III)/Te(IV) with EDTA and tartaric acid in sulfuric acid solution // *Journal of the Electrochemical Society*. 2019. Vol. 166. P. D719. DOI: 10.1149/2.0641914jes.

69. Senda A., Takano Y., Nakagawa T. Formation of antimony film by electroless plating // *Journal of the Surface Finishing Society of Japan*. 1992. Vol. 43, no. 6. P. 589–594. DOI: 10.4139/sfj.43.589.

70. Periferakis A., Caruntu A., Periferakis A.-T., Scheau A.-E., Badarau I.A., Caruntu C., et al. Availability, toxicology and medical significance of antimony // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022. Vol. 19, no. 8. P. 4669. DOI: 10.3390/ijerph19084669.

REFERENCES

1. Bartl D., Mudrokh O. *Chemical and electrochemical processing of metals*. Moscow: Mashgiz; 1961, 712 p. (In Russian).

2. Korovin N.V. *New coatings and electrolytes in galvanotechnics*. Moscow: Metallurgizdat; 1962, 135 p. (In Russian).

3. Solovyeva Z.A., Solodkova L.N. Electrodeposition of antimony and its alloys. In: *Itogi nauki i tekhniki. Elektrokhiimiya = Results of science and technology. Electrochemistry*. Moscow: All-Union Institute of Scientific and Technical Information; 1972, vol. 8, p. 215–271. (In Russian).

4. Bryngelsson H., Eskhult J., Edström K., Nyholm L. Electrodeposition and electrochemical characterization of thick and thin coatings of Sb and Sb/Sb₂O₃ particles for Li-ion battery anodes. *Electrochimica Acta*. 2007;53(3):1062–1073. DOI: 10.1016/j.electacta.2007.02.009.

5. Howard J.S., Adams Jr. E., Grover T.E., Carpenter N. *Improvement in electroplating with antimony*. Patent USA, no. 100038; 1870.

6. Betts A.G. *Process of electrodepositing of antimony*. Patent USA, no. 792307; 1905.

7. Marino Q., Bowen C. *An electrolytic process for coating iron or steel with lead or antimony or an alloy of lead and antimony*. Patent GB, no. 130302; 1919.

8. Ghosh J.C., Kappana A.N. Electrodeposition of antimony. *The Journal of Physical Chemistry*. 1924;28(2):149–160. DOI: 10.1021/j150236a005.

9. Bloom M.C. *Improvements in or relating to the electrodeposition of antimony*. Patent GB, no. 559164; 1942.

10. Bloom M.C. *Electrodeposition of antimony*. Patent USA, no. 2389131; 1945.

11. Chester A.E. *Method of electroplating*. Patent USA, no. 2515192; 1950.

12. Little J.D. *Electrodeposition of antimony*. Patent USA, no. 2683114; 1954.

13. Karash W.P. *Electrodeposition of antimony*. Patent USA, no. 2711010; 1955.

14. Burnside D.G. *Antimony plating*. Patent USA, no. 2715096; 1955.

15. Du Rose A.H. *Electrodeposition of antimony*. Patent USA, no. 2721836; 1955.

16. Smart C.F. *Improvements in or relating to the electrodeposition of lead and antimony and alloys thereof*. Patent GB, no. 737713; 1955.

17. Smart C.F. *Electrodeposition of antimony and antimony alloys*. Patent USA, no. 2750333; 1956.

18. Ehrhardt R.A. *Electrodeposition with antimony*. Patent USA, no. 2753299; 1956.

19. Smart C.F. *Antimony plating bath*. Patent USA, no. 2779725; 1957.

20. Du Rose A.H. *Alkaline antimony plating*. Patent USA, no. 2801959; 1957.

21. Du Rose A.H. *Heterocyclic nitrogen compound containing antimony plating solutions and process*. Patent USA, no. 2813065; 1957.

22. Smart C.F. *Antimony plating bath*. Patent USA, no. 2817629; 1957.

23. Breining E.R., Nixon F., Vincent W.R. *Antimony plating bath and process*. Patent USA, no. 2823176; 1958.

24. Schaer G.R. *Antimony plating process*. Patent USA, no. 2918414; 1959.

25. Schaer G.R. *Antimony plating process*. Patent USA, no. 2918415; 1959.

26. Gevorkyan V.M. *Method of antimony electrodeposition on metals*. Author's certificate no. 142489, USSR; 1961. (In Russian).

27. Shibleva T.G., Povetkin V.V., Zakharov M.S. Structure and properties of antimony electrodeposited from solutions containing trilon B. *Zashchita metallov*. 1985;6:974–976. (In Russian).

28. Sadana Y.N., Singh J.P., Kumar R. Electrodeposition of antimony and antimony alloys – a review. *Surface Technology*. 1985;24(4):319–353. DOI: 10.1016/0376-4583(85)90053-6.

29. Abd El Rehim S.S., Awad A., El Sayed A. Electroplating of antimony and antimony-tin alloys. *Journal of Applied Electrochemistry*. 1987;17:156–164. DOI: 10.1007/BF01009142.

30. Shibleva T.G., Povetkin V.V., Zakharov M.S. *Electrolyte for antimony deposition*. Author's certificate no. 1220387, USSR; 1996. (In Russian).

31. Shibleva T.G., Povetkin V.V. Electrodeposition

of antimony from trilonate solutions. *ChemChemTech*. 2001;44(6):127-129. (In Russian).

32. Aoun C.M. *Electroplating solution for plating antimony and antimony alloy coatings*. Patent USA, no. 6409906; 2002.

33. Ro B., Arai T., Yamamoto T. *Electroplating bath of antimony or its alloys*. Patent JP, no. 5142571; 2013.

34. A kind of antimony electroplating solution and preparation method thereof. Patent no. 109778259, CN; 2020.

35. Kulikova D.I. Specific features of electric deposition of antimony from aqueous solutions. *Herald of Technological University*. 2020;23(12):9-11. (In Russian). EDN: ONQOQH.

36. Bhat T.R., Iyer R.K. Studies on EDTA complexes: V. Antimony(III) and bismuth(III) EDTA system. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*. 1965;335(5-6):331-336. DOI: 10.1002/zaac.19653350513.

37. Wang E., Chang J. Polarographic study of antimony(III) complex with ethylenediaminetetra-acetic acid. *Acta Chimica Sinica*. 1965;31(1):18-28.

38. Anderegg G., Malik S. Complexone XVIII. The complexes of trivalent antimony with polyaminocarboxylates. *Helvetica Chimica Acta*. 1970;53(3):564-569. (In German). DOI: 10.1002/hlca.19700530313.

39. Özer U.Y., Bogucki R.F. Equilibrium studies of antimony(III) chelates in aqueous solution. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*. 1971;33(12):4143-4153. DOI: 10.1016/0022-1902(71)80514-6.

40. Anderegg G. *Critical survey of stability constants of EDTA complexes*. Oxford – New York – Toronto – Sydney – Paris – Frankfurt: Pergamon Press; 1977, 42 p.

41. Wang E. Polarographic electrode process of antimony(III) complexes with complexones. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. 1982;47(12):3243-3251. DOI: 10.1135/cccc19823243.

42. Filella M., May P.M. Critical appraisal of available thermodynamic data for the complexation of antimony(III) and antimony(V) by low molecular mass organic ligands. *Journal of Environmental Monitoring*. 2005;7(12):1226-1237. DOI: 10.1039/B511453E.

43. Kolbe F., Mattusch J., Wennrich R., Weiss H., Sorkau E., Lorenz W., et al. Analytical investigations of antimony-EDTA complexes and their use in speciation analysis. *Fresenius Environmental Bulletin*. 2012;21(11c):3453-3458.

44. Kita I., Uehiro T., Iwamoto T., Ouchi A., Yoshino Y. Molecular structure of ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetato complex of antimony(III): $\text{HSb}(\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Chemistry Letters*. 1976;5(4):333-334. DOI: 10.1246/cl.1976.333.

45. Shimoi M., Orita Y., Uehiro T., Kita I., Iwamoto T., Ouchi A., et al. The structure of (Hydrogen ethylenediaminetetraacetato)antimony(III) dihydrate $\text{Sb}(\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_8) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 1980;53(11):3189-3194. DOI: 10.1246/bcsj.53.3189.

46. Mistryukov V.E., Sergeev A.V., Mikhailov Yu.N., Shchelokov R.N. Synthesis and crystal structure of $(\text{CN}_3\text{H}_6)[\text{Sb}(\text{EDTA})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Koordinatsionnaya khimiya*. 1987;13(8):1129-1131. (In Russian).

47. Xie Z., Hu S. Crystal structure of sodium ethylenediaminetetraacetatoantimony(III) trihydrate $\text{Na}[\text{Sb}(\text{EDTA})] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. *Chinese Journal of Structural Chemistry*. 1991;10(2):129-131.

48. Marrot B., Brouca-Cabarrecq C., Mosset A. $\text{LiSb}(\text{edta})(\text{H}_2\text{O})$: a convenient precursor to LiSbS_2 and LiSbO_3 . *Journal of Materials Chemistry*. 1996;6(5):789-793. DOI: 10.1039/JM9960600789.

49. Davidovich R.L., Logvinova V.B., Kaydalova T.A. Antimony(III) ethylenediaminetetraacetate complex compounds with mono and double charged cations. *Koordinatsionnaya khimiya*. 1998;24(6):424-430. (In Russian).

50. Marrot B., Brouca-Cabarrecq C., Mosset A. $[\text{CaSb}_2(\text{EDTA})_2(\text{H}_2\text{O})_8]_n$: synthesis, crystal structure, and thermal behavior. *Journal of Chemical Crystallography*. 1998;28:447-452. DOI: 10.1023/A:1021716605217.

51. Fun H.K., Raj S.S.S., Razak I.A., Ilyukhin A.B., Davidovich R.L., Huang J.W., et al. Aminoguanidinium (ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetato)antimonite(III) monohydrate. *Acta Crystallographica Section C*. 1999;55:905-907. DOI: 10.1107/S0108270199002310.

52. Ilyukhin A.B., Davidovich R.L. Effect of a cation on stereochemical activity of lone electron pair in structures of ethylenediaminetetraacetatoantimonates(III), $\text{Cat}[\text{Sb}(\text{EDTA})] \cdot x\text{H}_2\text{O}$ [$\text{Cat}^+ = \text{Cs}, \text{NMe}_4, 1/2[\text{H}_2\text{en}], \text{NH}_4, \text{Ti}, \text{K}, 1/2\text{Mn}, 1/2\text{Cd}, \text{or } \text{NH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$]. *Crystallography Reports*. 1999;44(2):204-213.

53. Ilyukhin A.B., Poznyak A.L. Stereochemical activity of a lone electron pair in antimony(III) and bismuth(III) chelates: crystal structures of $\text{Ca}[\text{Sb}(\text{edta})_2] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ and $\text{Ba}[\text{Bi}(\text{edta})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$. *Crystallography Reports*. 2000;45(1):56-63. DOI: 10.1134/1.171137.

54. Davidovich R.L. *Complexonates of antimony(III) and bismuth(III)*. Vladivostok: Dalnauka; 2003, 192 p. (In Russian).

55. Hu S., Chen M. Study on the secondary bonding and coordination polyhedra in crystal of antimony(III) complexone family. *Acta Physico-Chimica Sinica*. 2005;21(6):646-652. DOI: 10.3866/PKU.WHXB20050614.

56. Shen J., Jiang Q.-Y., Zhong G.-Q., Jia Y.-Q., Yu K.-B. Synthesis, crystal structure and thermal decomposition of a novel 3D heterometallic Sb(III)-Pr(III) complex $[\text{Sb}_2-\mu_4(\text{EDTA})_2\text{Pr}(\text{H}_2\text{O})_5]\text{NO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. *Acta Chimica Sinica*. 2007;65(16):1588-1592.

57. Zhong G.Q., Shen J., Jiang Q.Y., Jia Y.Q., Chen M.J., Zhang Z.P. Synthesis, characterization and thermal decomposition of $\text{Sb}^{\text{III}}\text{-M-Sb}^{\text{III}}$ type trinuclear complexes of ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetate (M: Co(II), La(III), Nd(III), Dy(III)). *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2008;92:607-616. DOI: 10.1007/s10973-007-8579-5.

58. Zhong G., Shen J., Jiang Q., Yu K. Synthesis and structural determination of a novel heterometallic complex $[\text{Sb}_2(\text{EDTA})_2-\mu_4\text{-Co}(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 5,15\text{H}_2\text{O}$. *Chinese Journal of Chemistry*. 2011;29(12):2650-2654. DOI: 10.1002/cjoc.201100394.

59. Shen J., Jin B., Jiang Q., Zhong G., Hu Y., Huo J. Synthesis, characterization, and magnetic properties of heterometallic trinuclear complex with Sb(III) and Ho(III). *Inorganica Chimica Acta*. 2012;385:158-163. DOI: 10.1016/j.ica.2012.01.045.

60. Shen J., Jin B., Jiang Q.-Y., Zhong G.-Q., Hu Y.-M., Huo J.-C. Edta-linked 5p-4f trinuclear heterometallic complex: syntheses, X-ray structure and luminescent properties. *Journal of Coordination Chemistry*. 2012;65(17):3040-3049. DOI: 10.1080/00958972.2012.709628.

61. Wu Z.-X., Zhong G.-Q. Synthesis and characterization of the trinuclear heterometallic complex $[\text{Sb}_2(\text{edta})_2\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})_4]\text{NO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. *Journal of Synthetic Crystals*. 2013;42(8):1707-1711.

62. Shen J., Jin B., Jiang Q.-Y., Zhong G.-Q., Hu Y.-M., Huo J.-C. Synthesis, structures, luminescent and magnetic

properties of heterometallic 5p-4f compounds with ethylenediaminetetraacetate. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*. 2013;639(1):89-95. DOI: 10.1002/zaac.201200401.

63. Li D., Zhong G.-Q. Synthesis and crystal structure of the bioinorganic complex [Sb(Hedta)]•2H₂O. *Bioinorganic Chemistry and Applications*. 2014;461605. DOI: 10.1155/2014/461605.

64. Liu T., Yang R.-G., Zhong G.-Q. Synthesis, structural characterization, and antibacterial activity of novel erbium(III) complex containing antimony. *Bioinorganic Chemistry and Applications*. 2018;4313197. DOI: 10.1155/2018/4313197.

65. Berezin N.B., Gudin N.V., Filippova A.G., Chevela V.V., Mezhevich Zh.V., Yakhyaev E.D., et al. *Electrodeposition of metals and alloys from aqueous solutions of complex compounds*. Kazan: Kazan State Technological University; 2006, 276 p. (In Russian).

66. Berezin N.B., Berezina T.N. General regularities of cathode recovery of metal complexes and their anodic

formation. *Butlerovskie soobshcheniya*. 2009;17(6):1-12. (In Russian). EDN: NCZXAB.

67. Gudin N.V. Role of structural factors in the deposition of metals from solutions of complexes. *Herald of Technological University*. 2016;19(9):10-18. (In Russian). EDN: VVVKLP.

68. Qi Y., Liu X., Wang W. Electrochemical reduction of Bi(III)/Sb(III)/Te(IV) with EDTA and tartaric acid in sulfuric acid solution. *Journal of the Electrochemical Society*. 2019;166:D719. DOI: 10.1149/2.0641914jes.

69. Senda A., Takano Y., Nakagawa T. Formation of antimony film by electroless plating. *Journal of the Surface Finishing Society of Japan*. 1992;43(6):589-594. (In Japanese). DOI: 10.4139/sfj.43.589.

70. Periferakis A., Caruntu A., Periferakis A.-T., Scheau A.-E., Badarau I.A., Caruntu C., et al. Availability, toxicology and medical significance of antimony. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(8):4669. DOI: 10.3390/ijerph19084669.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

Афонин Евгений Геннадиевич,

к.х.н., старший научный сотрудник,
Калужский научно-исследовательский
институт телемеханических устройств,
248000, г. Калуга, ул. Карла Маркса, 4,
Российская Федерация,
afonineg.chem@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0005-5457-8646>

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 01.09.2024.
Одобрена после рецензирования 18.09.2025.
Принята к публикации 19.09.2025.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Evgeniy G. Afonin,

Cand. Sci. (Chemistry), Senior Researcher,
Kaluga Research Institute
of Telemechanical Devices,
4, Karl Marx St., Kaluga, 248000,
Russian Federation,
afonineg.chem@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0005-5457-8646>

Contribution of the author

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

Conflict of interest

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

The final manuscript has been read and approved
by the author.

Information about the article

The article was submitted 01.09.2024.
Approved after reviewing 18.09.2025.
Accepted for publication 19.09.2025.

Обзорная статья
УДК 57.086.83
EDN: CCBZMQ
DOI: 10.21285/achb.987



Синтетические компоненты гидрогелей в тканевой инженерии

Н.Н. Дремина[✉], И.С. Трухан, И.А. Шурыгина, М.Г. Шурыгин

Иркутский научный центр хирургии и травматологии, Иркутск, Российская Федерация

Аннотация. Целью проведенного исследования являлось осуществление аналитического обзора синтетических компонентов, таких как полиэтиленгликоль и акриловая кислота, для изготовления гидрогелей, выявление их преимуществ и недостатков, а также изучение возможностей применения данных материалов в тканевой инженерии. Гидрогели представляют собой сшитые трехмерные полимерные соединения, которые благодаря наличию гидрофильных частиц способны поглощать большое количество жидкости. Физико-химические свойства гидрогелей настраиваются в зависимости от поставленных задач и определяются составом композиции, концентрацией компонентов, методами и плотностью сшивания, способами изготовления, а также наличием присоединенных веществ. Гидрогели применяются в различных областях, среди которых одно из главных мест занимают биомедицина, биотехнологии и биоинжиниринг. Известно, что компоненты для изготовления гидрогелей делятся на природные, синтетические и полусинтетические. В отличие от гидрогелей из природных компонентов гидрогели из синтетических составляющих обладают таким преимуществом, как высокая воспроизводимость. Синтетические гидрогели способны обеспечить большую гибкость в отношении химического состава и механических свойств, которые могут быть адаптированы для конкретных применений с включением функциональных групп, а их транспортные свойства могут быть изменены путем регулировки длины и плотности полимерных цепей. В настоящее время синтетические полимеры стали важным альтернативным выбором для изготовления гидрогелевых каркасов, поскольку они могут быть молекулярно адаптированы с учетом структуры, молекулярной массы, механической прочности и биоразлагаемости. В данной статье представлена основная информация о гидрогелях, описана их структура, классификация, рассмотрены основные синтетические компоненты для гидрогелевых композиций и способы их применения.

Ключевые слова: гидрогель, синтетические компоненты, биомедицина, тканевая инженерия

Для цитирования: Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г. Синтетические компоненты гидрогелей в тканевой инженерии // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 305–317. DOI: 10.21285/achb.987. EDN: CCBZMQ.

CHEMICAL SCIENCES

Review article

Synthetic components of hydrogels in tissue engineering

Natalya N. Dremina[✉], Irina S. Trukhan, Irina A. Shurygina, Michael G. Shurygin

Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The study aims to provide an analytical review of synthetic components, such as polyethylene glycol and acrylic acid, used in the production of hydrogels, identify their advantages and disadvantages, and explore the potential applications of these materials in tissue engineering. Hydrogels constitute cross-linked three-dimensional polymers that, due to the presence of hydrophilic particles, are capable of absorbing large amounts of liquid. The physicochemical properties of hydrogels are adjusted depending on the task and are determined by the composition, component concentration, cross-

linking methods and density, manufacturing methods, and the presence of additives. Hydrogels are used in various fields, including biomedicine, biotechnology, and bioengineering. It is known that components for the manufacture of hydrogels can be divided into natural, synthetic, and semi-synthetic. Unlike hydrogels prepared from natural components, synthetic hydrogels have the advantage of high reproducibility. Synthetic hydrogels offer greater flexibility in terms of chemical composition and mechanical properties, which can be adapted for specific applications by incorporating functional groups, and their transport properties can be modified by adjusting the length and density of polymer chains. Synthetic polymers have now become an important alternative in the preparation of hydrogel scaffolds, as they can be molecularly adjusted, taking into account the structure, molecular weight, mechanical strength, and biodegradability. The present article provides basic information about hydrogels, describes their structure and classification, and discusses the main synthetic components for hydrogel compositions and ways to use them.

Keywords: hydrogel, synthetic components, biomedicine, tissue engineering

For citation: Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A., Shurygin M.G. Synthetic components of hydrogels in tissue engineering. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):305-317. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.987. EDN: CCBZMQ.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время пристальное внимание уделяется биоматериалам с определенными контролируруемыми характеристиками, к которым относятся гидрогели. Гидрогели представляют собой трехмерные полимерные соединения с ковалентными или гидростатическими связями и настраиваемыми физико-химическими свойствами для реализации конкретных задач. Свойства гидрогелевых композиций определяются составом, концентрацией используемых компонентов, методами и плотностью сшивания, способами изготовления, а также присоединенными активными молекулами [1]. Известно, что из-за наличия гидрофильных частиц гидрогели способны поглощать большое количество воды до достижения баланса между силами осмоса и сцепления. Благодаря такому свойству гидрогели используются в разных отраслях, среди которых одно из ведущих мест занимают биомедицина, биотехнологии и биоинжиниринг. На сегодняшний день синтетические компоненты являются важным альтернативным выбором для изготовления гидрогелевых тканеинженерных композиций, так как могут быть молекулярно адаптированы с учетом структуры, молекулярной массы, механической прочностью и биоразлагаемости.

Целью проведенного исследования являлось осуществление аналитического обзора синтетических компонентов для изготовления гидрогелей, выявление их преимуществ и недостатков, а также изучение возможностей применения данных материалов в тканевой инженерии.

КЛАССИФИКАЦИЯ ГИДРОГЕЛЕЙ

В зависимости от выбранного материала гидрогели делятся на природные, в которых в качестве основы используют коллаген, желатин, хитозан и другие компоненты, и синтетические, в которых используют такие основы, как полиэтиленгликоль (PEG), соединения на основе акриловой кислоты, поливиниловый спирт (PVA) и другие. В отличие от природных гидрогелей синтетические гидрогели считаются более воспроизводимыми, хотя их конечная структура также зависит от методов сшивания, которые могут быть химическими (термообратимыми – 1-го рода) и физическими (термообратимыми – 2-го рода), а также от условий полимеризации. Большинство гидрогелей на основе синтетических полимеров относятся к гидрогелям 1-го рода, т.е. образованы ковалентными поперечными связями.

Их наиболее часто получают методами свободнорадикальной полимеризации, сополимеризации и сшивки водорастворимых полимеров [2].

Важными факторами для применения синтетических гидрогелей в тканевой инженерии являются механическая стабильность и прочность, которые могут быть изменены за счет включения дополнительных агентов. Оптимальной степени сшивания для всех гидрогелей не существует – она зависит от цели дальнейшего применения, от того, нужен ли продукт более прочный, но менее эластичный, или наоборот. Эластичность, в свою очередь, придает гибкость сшитым цепям для лучшей миграции, диффузии включенных молекул.

Также гидрогели подразделяются на аморфные, кристаллические, полукристаллические в соответствии с физической структурой полимерной сетки и ионные (заряженные) или нейтральные [3].

Аморфные гидрогели содержат неструктурированные макромолекулярные цепи без областей выравнивания, в то время как полукристаллические гидрогели являются комбинированием аморфной субстанции с плотными участками структурированных макромолекул. Кристаллические гидрогели состоят преимущественно из ориентированных областей, образуя взаимосвязанную сеть по всему объему гидрогеля. Большинство синтетических гидрогелей аморфны, и для создания структурированных участков многим гидрогелям требуется дополнительная химическая обработка или функционализация.

Наряду с этим гидрогели могут быть классифицированы как нейтральные и заряженные (анионные, катионные и амфолитные). Такое обозначение относится к их общему заряду, а именно к отсутствию заряженных групп в нейтральных гидрогелях, отрицательному заряду диссоциированной молекулы полимера в анионных гидрогелях, положительному заряду макромолекулы при диссоциации в катионных гидрогелях и наличию как отрицательно, так и положительно заряженных групп в амфолитных гидрогелях, что придает им двойственное поведение. Последние три типа (анионные, катионные, амфолитные) также описываются как ионные гидрогели или полиэлектролиты [4].

Также в отличие от природных синтетические гидрогели способны обеспечить большую гибкость в отношении химического состава и механических свойств. Они могут быть адаптированы для конкретных медико-биологических применений, а их транспортные свойства могут быть изменены путем регулировки длины и плотности

полимерных цепей. В настоящее время синтетические полимеры стали важным альтернативным выбором для изготовления гидрогелевых тканеинженерных каркасов, поскольку они могут быть молекулярно адаптированы с учетом структуры, молекулярной массы, механической прочности и биоразлагаемости. По степени биоразлагаемости полимеры, используемые для получения синтетических гидрогелей, можно разделить на два основных типа: небиodeградируемые, то есть небиоразлагаемые, и биоразлагаемые, каждый из которых имеет свою значимость [5].

Небиоразлагаемые синтетические гидрогели, как правило, создают способом сополимеризации мономеров, в состав которых входят метакрилаты, акриламиды, PEG. Другим способом формирования небиodeградируемых гидрогелей является химическое сшивание модифицированного PVA и радиационное сшивание линейного или разветвленного PEG. Небиоразлагаемые гидрогели чаще всего используют для конструирования костной и хрящевой тканей, и их применение ограничено в разработке сосудистых конструкций и других мягких тканей. Так, был разработан фотополимеризуемый гидрогель из смеси PEGDA (диакрилат полиэтиленгликоля) и PEG, способствующий хондрогенезу *in vitro* с применением мезенхимальных стволовых клеток человека. В результате выявлено, что при использовании PEGDA с молекулярной массой 6 кДа и PEG с молекулярной массой 88 кДа в соотношении 1:2 наблюдалось межклеточное отложение протеогликана, содержание которого было значительно выше, чем в гидрогелях PEGDA (6 кДа) без PEG, и в гидрогелях, изготовленных в соотношении PEGDA:PEG 2:1, в которых наблюдалось отложение перичеллюлярного протеогликана [6].

Биodeградируемые синтетические гидрогели являются альтернативой природным или химически модифицированным природным гидрогелям. Например, сложные полиэфиры и полифосфазены сочетают в себе улучшенную механическую прочность, настраиваемые свойства набухания и биобезопасность. Синтетические биоразлагаемые полиэфиры считаются наиболее коммерчески конкурентоспособными полимерами для медицинского применения. Они биосовместимы и используются для производства различных медицинских устройств, таких как устройства для фиксации кости, контролируемые средства доставки лекарств, имплантаты, винты, стенты, шовный материал, пластины и материалы для тканевой инженерии [7].

В клеточных технологиях и тканевой инженерии наиболее часто используются синтетические полимеры PEG, PVA и материалы на основе полимеров акриловой кислоты.

ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ

PEG – водорастворимый, линейный полимер молекулярной массой от 0,4 до 100 кДа, который синтезируется путем анионной полимеризации напряженного трехчленного цикла оксида этилена [8]. PEG является наиболее широко используемым синтетическим полимером для тканевой инженерии из-за его универсальности, поскольку на каждом конце он имеет гидроксильные группы, которые могут быть преобразованы в такие функциональные группы, как метилоксильные, карбоксильные, аминные, тиоловые, азидные и другие [9].

Концентрация полимера, длина и конфигурация цепи приводят к различным сетчатым структурам и влияют на физические и реологические свойства гидрогелей PEG.

Непосредственно для инициации PEG-гидрогелей используются три основных метода сшивания: высокоэнергетическое ионизирующее излучение – электронный пучок и гамма-излучение (для линейных и разветвленных полимеров PEG, например, для доставки лекарственных средств) [10], свободнорадикальная полимеризация [11] и специфические химические реакции, такие как реакция конденсации, реакция Михаэля, химическое лигирование и ферментативная реакция.

Для биотехнологических целей наиболее распространенным методом образования 3D-структуры PEG-гидрогеля считается фотополимеризация, при которой под действием ультрафиолетового излучения происходит преобразование жидких растворов макромеров PEG в твердые гидрогели при физиологических температуре и pH. Этот метод выгоден для изготовления гидрогелевых каркасов *in situ* с пространственно-временным контролем, а также в различных 3D-структурах с инкапсуляцией клеток и биологических агентов [12].

PEG-гидрогели не разлагаются естественным путем в организме, но могут быть изменены для улучшения деградации с помощью включения разлагаемых сегментов, таких как алифатические полиэфиры (поли(молочная кислота), поли(гликолевая кислота), поли(ϵ -капролактон)) и полипептиды (полиаланин, поли(аланин-фенилаланин), поли(γ -этил-L-глутамат) или поли(γ -этил-L-глутамат-со-L-глутаминовая кислота)) [13, 14]. Удобным способом обеспечения биоразлагаемости каркаса гидрогеля является использование дисульфидной связи ($-S-S-$), которая возникает в результате взаимодействия двух сульфгидрильных ($-SH$) групп цистеинов или других SH-содержащих веществ. Данная связь является привлекательной, например, для создания гидрогелей с целью доставки лекарственных средств по причине ее обратимости и относительной стабильности в плазме крови. В системном кровотоке у человека происходит восстановление дисульфидных связей благодаря присутствию низких концентраций цистеина (~ 8 мМ) и глутатиона (~ 2 мМ), что обеспечивает длительную циркуляцию в крови гидрогелевой композиции на основе $-S-S-$ связей и замедленное высвобождение из нее лекарственного препарата [15].

Для определения путей деградации в организме группа исследователей [16] ковалентно конъюгировала родамин В с концами PLGA-PEG-PLGA (PLGA – поли(молочная кислота – со-гликолевая кислота)) в качестве макромолекулярного флуоресцентного зонда и синтезировала магнитные наночастицы на основе $CoFe_2O_4$ в качестве контрастного вещества магнитной резонансной томографии. Процессы деградации *in vivo* полученного гидрогеля PLGA-PEG-PLGA, содержащего два зонда, отслеживались с помощью контроля зоны подкожного введения с использованием ультразвукового сканирования, а также применения флуоресценции и магнитно-резонансной томографии. Был определен трехступенчатый механизм деградации гидрогеля *in vivo*. На первом этапе деградацию гидрогеля регулирует поверхностная эрозия, затем доминирует механизм поверхностной эрозии в сочетании с гидролизом полиэфирных сегментов, в заключении главным становится процесс, управляемый гидролизом. Растворенные полимеры и продукты их

деградации в основном выводятся печенью, желчным пузырем и селезенкой [16].

В отличие от PEG-полиэфирных гидрогелей, PEG-полипептидные гидрогели разлагаются только в присутствии протеолитических ферментов, таких как катепсин В, катепсин С и эластаза. PEG-полипептидные гидрогели стабильны *in vitro* и могут находиться при комнатной температуре в течение длительного времени без структурных изменений. После введения в организм PEG-полипептидные гидрогели подвергаются ферментативному гидролизу протеазами и в итоге разлагаются на низкомолекулярные фрагменты PEG и нейтральные аминокислоты [17].

PEG-гидрогели являются привлекательным материалом для создания 3D-систем в водной среде для регенерации тканей, однако из-за неадгезивной природы полимерных цепей немодифицированные PEG-гидрогели проявляют минимальную биологическую активность, а инкапсулированные в такой гидрогель клетки – низкую жизнеспособность [18]. Преодоление данного недостатка возможно путем модификации PEG-гидрогелей. Например, известно, что фосфатные группы способствуют минерализации гидрогелевой сети, при которой происходит связывание секретируемого клетками остеопонтинина, что приводит к усилению взаимодействия клетки с матрицей и повышению клеточной жизнеспособности.

На сегодняшний день разработано множество биоактивно модифицированных PEG-гидрогелей с включенными в них адгезивными пептидами, фермент-чувствительными пептидами и факторами роста. В качестве адгезивных пептидов чаще всего используют фибронектин, ламинин, коллаген и эластин [19, 20]. Наряду со специфической адгезией клеток трипептиды также увеличивают сродство к интегринам, повышая биологическую активность более чем в 200 раз по сравнению с линейными аналогами [21].

Чувствительные к ферментам конструкции также используются для модуляции адгезии клеток к PEG-гидрогелям. Включения, расщепляемые ферментами, имитируют внеклеточный матрикс, который обеспечивает временные сигналы для регулирования клеточных реакций и роста тканей [22]. Например, PEG-гидрогель, конъюгированный с аргинилглицил-аспарагиновой кислотой, является каркасом в трехмерной культуре, который улучшает рост аксонов. В то же время добавление тенасцина С контролирует рост, дифференцировку нейронов, а также способствует клеточному выживанию нервных стволовых клеток [23].

Сигналы для модуляции гидрогеля передают ростовые факторы, связывающиеся с компонентами внеклеточного матрикса благодаря функциональным доменам. Из факторов роста чаще всего используют фактор роста эндотелия сосудов, фактор роста фибробластов, трансформирующий фактор роста и эпидермальный фактор роста, для связывания с которыми используют ковалентное присоединение и химическую модификацию гепарина, сульфата хондроитина и гиалуроновой кислоты.

«Иммуноизолирующие» гидрогели используют для предотвращения повреждения инкапсулированных объектов иммунными реакциями организма. Так, полимеризуемый миметический макромер металлопорфирина супероксиддисмутазы (Mn(III) тетраакс[1-(3-акрилокси-пропил)-4-пиридил] порфирин (MnTPPyP-акрил)) был

синтезирован и сополимеризован с PEGDA, который защищает инкапсулированные клетки от повреждения, опосредованного активными формами кислорода [24].

Также PEG является основным компонентом для изготовления термочувствительных гидрогелей. На сегодняшний день широко используются термочувствительные био-разлагаемые гидрогели, содержащие такие фрагменты PEG, как PLA-PEG-PLA (PLA – полимолочная кислота), PCGA-PEG-PCGA (PCGA – поликапролактон-со-гликолевая кислота), PCL-PEG-PCL (PCL – поликапролактон) и другие. Данные гидрогели – так называемые плуроники или блоксополимеры – являются блок-сополимерами. Различное сродство к воде, наличие гидрофобных и гидрофильных частей молекулы придает плуроникам в водном растворе свойства поверхностно-активных веществ, образующих мицеллы. Так, гидрогель PLGA-PEG-PLGA обладает хорошим антиадгезионным эффектом в отношении профилактики спаек в абдоминальной хирургии у экспериментальных животных [25]. Содержащие фрагменты PEG плуроники используются для доставки лекарственных препаратов, так как они способны легко инкапсулировать фармакологически активные молекулы при смешивании с золями при комнатной и более низкой температуре, что приводит к эффективной инкапсуляции лекарственного средства в такие гидрогели.

Амфифильные полимерные носители могут самособираться в водной среде в мицеллы, проявляя способность к растворению гидрофобных низкомолекулярных лекарственных средств, высвобождение которых зависит от степени деградации самого носителя [26, 27]. Так, гидрогель PLGA-PEG-PLGA способен солюбилизовать малорастворимый лекарственный препарат, например паклитаксел, растворимость которого при этом увеличивается более чем в 2000 раз. При этом высвобождение лекарственной субстанции из биодеградируемого геля изменяет типичный диффузионно-контролируемый профиль на зависимый как от диффузии, так и от деградации носителя, обеспечивая время высвобождения более 1,5 месяца в случае с паклитакселем [28].

Благодаря устойчивости к грибковой контаминации PEG является идеальным наполнителем для жидких лекарственных форм, которые используются в качестве суспендирующих агентов и стабилизаторов эмульсий, в качестве солюбилизатора в каплях офтальмологических препаратов или в мягких желатиновых капсулах, улучшая растворимость гидрофобных лекарственных средств [29, 30].

Термогелеобразующая система, содержащая в своем составе PEG, была разработана в качестве инъекционной матрицы для интравитреальной доставки лекарственного средства – дексаметазона. В эксперименте на кроликах отмечено, что количество инъекций значительно снизилось, время удержания дексаметазона было увеличено до более чем 10 дней после однократной инъекции, а гистологическое наблюдение подтвердило хорошую биосовместимость [31]. Также гидрогель на основе PEG с циклоспорином был использован при такой патологии, как глаукома. Из-за низкой адгезивной активности геля-носителя и более длительного высвобождения препарата после субконъюнктивального применения снижалось образование фиброзной ткани после операции, что способствовало эффективному дренажу и, как следствие, нормализации внутриглазного давления [32].

Благодаря возможности конъюгирования различных лекарственных препаратов и других активных агентов гидрогели, содержащие PEG, разрабатываются в качестве основы лекарственных форм для лечения широкого круга заболеваний. В качестве примера можно привести сахарный диабет [33, 34], постинфарктную сердечную недостаточность [35], остеопороз [36]. В последнем случае гидрогель, в составе которого присутствует конъюгат PEG с кальцитонином, способен ингибировать остеокласты и стимулировать образование остеобластов, повышая костную массу и снимая боль при остеопорозе. Экспериментальное применение гидрогеля, содержащего в своем составе наночастицы PEG-кальцитонин, или оксида кальция, позволяющее сократить количество инъекций до одного раза в месяц, имеет большое преимущество перед классическим вариантом лечения остеопороза кальцитонином, при котором требуются ежедневные инъекции в течение более 3 месяцев. При этом стимуляция трабекулярной регенерации кости обеспечивает биомеханические свойства реконструированной кости, сопоставимые со свойствами нормальной костной ткани [36].

Для восстановления костных и хрящевых дефектов предложено применение гидрогеля, содержащего PEG с сигнальным белком BMP-2, который стимулировал остеогенез, в итоге формировалась зрелая костная ткань [37].

Вместе с тем гидрогели, содержащие в качестве основы PEG с различными факторами дифференцировки и факторами роста, хорошо подходят для создания 3D-культур, в которых чаще используют мезенхимальные стволовые клетки с направленной дифференцировкой [25]. Так, гидрогель с мезенхимальными стволовыми клетками костного мозга способствовал эффективному восстановлению суставного хряща у кроликов в течение 12 недель с биомеханическими свойствами вновь образованной ткани, сопоставимыми с нормальной хрящевой тканью [38].

Для улучшения остеогенеза группа ученых создала гидрогель PEGDA с ковалентно включенным адгезивным пептидом Arg-Gly-Asp различных концентраций. Анализ экспрессии маркеров остеокальцина и щелочной фосфатазы показал увеличение производства щелочной фосфатазы более чем на 1000% и увеличение накопления остеокальцина в среде на 277% [39].

ГИДРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ АКРИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

Среди синтетических полимеров большое внимание уделяется также гидрогелям на основе акриловой кислоты и ее производных, к которым относятся различные акрилаты, полиакрилаты, метакрилаты, метилметакрилаты, акриламиды и другие. Сама акриловая кислота является ненасыщенной карбоновой кислотой, состоящей из винильной группы, соединенной непосредственно с карбоксильной группой. Это бесцветная жидкость с характерным запахом, получаемая путем парофазного каталитического окисления пропилена кислородом.

В большинстве случаев синтез акриловых гидрогелей осуществляется посредством радикальной полимеризации мономера в присутствии сшивающего агента, обеспечивающего формирование сетчатой структуры. Например, для образования геля полиэтилендиамид

акрилата используют мономер акриловой кислоты в присутствии сшивающего агента – этилендиамина в водной среде. В качестве инициатора полимеризации можно использовать окислительно-восстановительную систему ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ и $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$). Для синтеза геля полигексаметилендиамидакрилата осуществляют радикальную полимеризацию акриловой кислоты в водной среде в присутствии углекислого аммония и гексаметилендиамина в качестве сшивающего агента [40].

Как и в большинстве случаев с полимерными гидрогелями, для создания гидрогелей на основе акриловой кислоты определенных физико-химических свойств добиваются различными методами производства или добавлением активных компонентов в зависимости от цели дальнейшего применения. Например, если рассматривать гидрогели на основе акриловой кислоты в качестве имплантатов тканей, то они обладают слабыми механическими свойствами и значительными изменениями размеров при погружении в жидкости. Известно, что даже механические свойства сосудов различаются в зависимости от их типа. Так, коронарные сосуды имеют модуль упругости 0,09–10,00 МПа и прочность на разрыв 0,4 МПа, в то время как у аорты модуль упругости 0,2–8,0 МПа и прочность на разрыв 0,8–5,1 МПа [41]. То же самое касается других тканей, что требует тщательного подбора материалов, их соотношения и способа изготовления. Для устранения таких негативных качеств, как недостаточная жесткость, зависимость от pH растворов и медленная скорость набухания, был изготовлен гидрогель с помощью одноэтапного формирования двойной сетки полимеров за счет фотополимеризации целлюлозы и полиакриламида при использовании активатора 2,4,6-триметилбензоилдифенилфосфиноксида и сшивающего агента PEGDA. Полученный гидрогель обладал повышенной жесткостью, быстрым набуханием, не зависящим от pH, и стал потенциальным кандидатом для имплантатов сосудистой и хрящевой тканей [42].

Многообещающих результатов в отношении лечения ран удалось добиться при изготовлении комплексного гидрогеля, содержащего мицеллы PEO-PPO-PEO (F127), встроенные в матрицу полиакриловой кислоты (PAA), с молекулами S-нитрозоглутатиона (GSNO), растворенными в гидрофильном домене [43]. В эксперименте на мышах было доказано, что местное высвобождение оксида азота из полученного гидрогеля происходит за счет абсорбции экссудата, приводит к усилению ангиогенеза и организации коллагеновых волокон, а также экспрессии генов трансформирующего фактора роста ($\text{TGF-}\beta$), инсулиноподобного фактора роста (IGF-1), хемокина SDF-1 и противовоспалительного цитокина IL-10 в рубцовой ткани.

В настоящее время гидрогели с двойной сеткой активно изучаются, а их применение в дальнейшем предполагает многообещающие результаты. Они состоят из двух взаимопроникающих полимерных сеток с противоположными механическими свойствами и механизмами полимеризации. Первая сеть жесткая и хрупкая, вторая мягкая и растяжимая. Благодаря двойной сети исследователям удалось исключить некоторые негативные свойства гидрогеля, к которым относятся высокая жесткость, сверхупругость, а также деформируемость и плохая адгезия. Так, были протестированы

однослойный гидрогель РММА, полученный методом свободнорадикальной полимеризации метакриловой кислоты, 2,2'-азобис (2-метилпропионамидин) дигидрохлорида и N,N'-метиленисакраламида, и двухслойный гидрогель РММА-РОЕГМА, который после первого метода погружали в раствор олиго(этиленгликоля) метилового эфира метакрилата (ОЕГМА), который также подвергся полимеризации. В отличие от гидрогеля с одной сеткой полученные гидрогели с двойной сеткой оставались эластичными, не поврежденными, сохраняли высокую адгезию при многократных циклах «отсоединение – присоединение» даже при pH 6. Повторное использование гидрогеля с одной сеткой невозможно в той же точке контакта при pH 6 из-за значительного разрушения после первого отсоединения [44].

Биосовместимый гидрогель, состоящий из желатин метакрилата с добавлением дубильной кислоты в качестве многофункционального поставщика водородных связей, благодаря которым настраиваются адгезионные свойства, показал значительное увеличение предельного напряжения (в 4,3 раза), модуля сжатия (в 2,5 раза) и удлинения (в 6 раз) по сравнению с гидрогелем из желатин метакрилата без добавления дубильной кислоты [45].

В эксперименте на мышах с ранами кожи гель, состоящий из желатин метакрилата с дубильной кислотой, был протестирован в качестве раневой повязки. Мыши были разделены на две группы: животным первой группы разрез кожи ушивали хирургическим швом, второй группе животных наносили изготовленный гидрогель. По сравнению с хирургическим швом существенным преимуществом использования данного гидрогеля является сокращение, упрощение процедуры операции, а также то, что место разреза после заживления кожной раны было практически незаметным.

Также с целью стимуляции ранозаживления была изготовлена гидрогелевая композиция, в состав которой вошли полиакриловая и гиалуриновая кислоты. Полиакриловая кислота является не только нетоксичным полимером с высокой водопоглощающей способностью, но и контактным активатором зимогенного фактора XII, активация которого приводит к образованию тромбина, протеолизующего растворимый фибриноген с образованием нерастворимого фибринового сгустка [46]. Гиалуриновая кислота благодаря своей биологической активности в отношении макрофагов и эндотелиальных клеток является стимулятором CD44-рецепторов, при активации которых запускается сигнальный каскад, способствующий процессу роста клеток и их подвижности, а также ресинтезу элементов внеклеточного матрикса, что приводит к восстановлению тканевого гомеостаза. Благодаря способности ускорять регенерацию тканей гиалуриновая кислота используется в качестве увлажняющего компонента перевязочного материала [47]. Полученный гидрогель имел связанную пористую структуру, был способен поглощать большое количество воды и обладал хорошей эластичностью и длительным адгезионным свойством [48].

Известно, что полиакриловая кислота является тканесклеивающим полимером и благодаря высоким адгезивным свойствам может быть применена при повреждении сосудов и органов. Вместе с поливинилпирролидоном полиакриловая кислота образует биоад-

гезивный комплекс на границе твердая фаза/раствор с низкой цитотоксичностью и медленной диссоциацией в организме. Так, при наложении комплексной пленки на травмированную яремную вену крысы наблюдалось быстрое образование гидрогеля, закрывающего поврежденный участок. При этом кровотечений не выявлено даже после снятия кровоостанавливающей клипсы [49]. Нанесение сложной пленки на поверхность травмированной печени мыши также приводило к прочной адгезии, и кровотечение было остановлено.

Кроме того, гидрогели на основе акриловой кислоты способны инкапсулировать лекарственные препараты, защищая их от воздействия физиологических факторов, таких как низкий pH в желудке, высокая концентрация ферментов, при которых многие препараты нестабильны. Например, были изготовлены гидрогели из полиакриловой кислоты и хитозана с различной степенью сшивания, загруженные амоксицилином и мелоксикамом. При этом было обнаружено, что по мере увеличения pH и уменьшения степени сшивания увеличиваются размер пор и степень набухания. Так как скорость высвобождения лекарственных препаратов увеличивается с повышением pH и уменьшается с увеличением степени сшивания, скорость высвобождения лекарства в той или иной степени контролируется комбинацией диффузии и биodeградируемости гидрогеля [50].

Для улучшения моторных и сенсорных функций у экспериментальных животных после травмы спинного мозга (гемисекция) группа исследователей изготовила метакрилатный гидрогель на основе поли(2-гидроксипропилметакрилата) (HEMA), модифицированного прикреплённым фибронектином (HEMA-Fn) и поли[N-(2-гидроксипропилметакриламид)]ом (HPMA). В результате было выявлено, что HEMA-Fn и HPMA способствуют росту аксонов, создавая для этого благоприятную среду. Кроме того, благодаря пептидной последовательности аргинин-глицин-аспартат фибронектина в гидрогеле HEMA-Fn наблюдалась тенденция к более плотной сети кровеносных сосудов в очаге поражения, что имеет жизненно важное значение для восстановления аксонов и улучшения функционального состояния [51].

При использовании с гидрогелями мезенхимальных стволовых клеток большое значение для последующей дифференцировки имеет мягкость и жесткость гидрогелевого матрикса. Например, на мягких матрицах (0,1–1,0 кПа), по механическим свойствам имитирующих мозг, наблюдается нейрогенная и адипогенная дифференцировка, миогенная дифференцировка преобладала в гелях с механическими свойствами, близкими к мышечным тканям (8–17 кПа), а остеогенная дифференцировка – на более жестких матрицах (25–40 кПа) [52]. В то же время при одинаковой жесткости (5 кПа) с увеличением модуля вязкости гидрогеля дифференцировка фибробластов и звездчатых клеток печени в миофибробласты снижается.

В отношении мезенхимальных стволовых клеток было выявлено, что при постоянном модуле сжатия полиакриламидного гидрогеля по мере увеличения вязкости наблюдаются изменения морфологии стволовых клеток, а также потенциала пролиферации и клеточной дифференцировки. Выявлены увеличение площади распространения мезенхимальных стволовых клеток и более высокая экспрессия маркеров адипогенной

и остеогенной дифференцировки [53]. Это позволило создать полиакриламидные гидрогели для направленной остеогенной дифференцировки с жесткостью 55 кПа и с релаксацией 15%. В результате исследований было показано, что данные параметры гидрогеля способствуют быстрой остеогенной дифференцировке мезенхимальных стволовых клеток по сравнению с гидрогелем той же жесткости, но с релаксацией 70%, что представляет большой интерес для тканевой инженерии и регенеративной медицины костной ткани [54].

Хорошие результаты были получены при изготовлении гидрогелей на основе поли(*N*-изопропилакриламида) (PNIPAAm). PNIPAAm и его сополимеры являются термочувствительными полимерами и обладают способностью к обратимому набуханию в водных растворах. Полимеры с низкой температурой гелеобразования возможно контролировать с помощью сополимеризации с гидрофобными или гидрофильными сомономерами, понижая или повышая температуру гелирования соответственно. Однако данные системы имеют недостаток, заключающийся в ограниченной биodeградируемости, которую возможно нивелировать с помощью модификации другими биоразлагаемыми мономерами. Гидрогели на основе таких термочувствительных полимеров, как PNIPAAm имеют, хорошие перспективы для применения в клеточной, тканевой инженерии и в качестве систем для доставки лекарственных средств с настраиваемым временем деградации. Так, использование гидрогеля на основе PNIPAAm с добавлением эластиноподобного белка привело к быстрой клеточной адгезии и пролиферации в динамических условиях [55]. Использование гиалуроновой кислоты в качестве сшивающего агента с добавлением хитозана, обладающего остеоиндуктивными свойствами, позволило создать инъекционный каркас с мезенхимальными стволовыми клетками, который продемонстрировал в эксперименте на мышах успешное формирование костной ткани.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, гидрогели с синтетическими полимерными компонентами находят широкое применение в биотехнологиях и медицине. В отличие от биополимеров синтетические полимеры редко обладают свойством биodeградируемости – к таковым относят полиэфиры и полифосфазены. Однако биodeградируемые полимеры при очевидном недостатке в затруднении элиминации из организма обладают рядом положительных свойств. В связи с их устойчивостью к химическому и ферментативному воздействию они хорошо переносят неблагоприятные факторы физиологических сред и не деградируют при культивации на них клеточных культур. Также они устойчивы к микробной контаминации, что в совокупности со способностью выступать в качестве транспортных систем для широкого спектра фармакологически активных молекул позволяет рассматривать их в качестве основы для разработки лекарственных форм.

Среди синтетических полимерных компонентов для гидрогелей наибольшее распространение получило использование PEG и их сополимеров, а также полиакрилатов. В основе этого лежит прежде всего их хорошая биосовместимость, возможность химической модификации концевых гидроксильных групп PEG, возможность конъюгации с биологически активными веществами, в том числе

пептидными структурами. Формирование трехмерных структур таких гидрогелей с контролируемой плотностью межмолекулярных сшивок позволяет контролировать количество удерживаемой воды, что непосредственно влияет на механические свойства гидрогеля. Управление образованием гидрогеля на основе синтетических полимеров позволяет регулировать его пористость, что дает возможность регуляции диффузии малых молекул и целенаправленной модификации системы доставки биологически активных веществ. Также это позволяет формировать структуры для культивации трехмерных клеточных культур. Отсутствие биологической активности гидрогелей PEG, препятствующее культивации клеток вследствие плохой адгезии, преодолевается за счет модификации различными пептидами, приближая биологические свойства гидрогеля к внеклеточному матриксу, играющему важную роль в адгезии и дифференцировке клеток.

Подобный подход с пептидной модификацией может быть использован в биотехнологиях для нивелирования недостатка отсутствия биodeградации синтетических структур гидрогеля. Подвергаемые ферментации пептидные шивки при развитии и дифференцировке клеточной культуры способствуют освобождению фракций PEG с невысокой молекулярной массой, которые обладают большей диффузионной подвижностью и могут быть элиминированы из организма.

Полиакриловая кислота и ее производные предоставляют широкие возможности для дизайна гидрогелей с заданными свойствами. Особенностью полиакрилатов является способность удерживать в структуре гидрогеля большое количество воды, хорошая адгезия к тканям, а также способность к формированию устойчивых комплексных систем гидрогелей из полиакрилатов и их производных с другими полимерами природного или синтетического происхождения. Комплексные гидрогели с пьюрониками используются в качестве депо-препаратов солюбилизированных гидрофобных фармакологически активных соединений, комплексы с полиамидами используются для повышения жесткости полиакрилатных гелей, а комплексные гели с биологическими полимерами позволяют придать гидрогелю необходимые биологические и физические свойства при сохранении возможности управления структурой полиакрилатного геля для обеспечения нужной пористости.

Возможность осуществления фотоактивируемой шивки полиакрилатов в гидрогеле открывает перспективы создания аддитивным методом сложных неомогенных гелевых структур для целей биоинжиниринга.

Задачи расширения представлений о факторах дифференцировки клеточных культур в геле и значимости достижения необходимых механических свойств при сохранении пористости и диффузионной способности для использования гелей с культурами плюрипотентных клеток в качестве имплантатов могут решаться в комплексных гидрогелях путем создания двойных и взаимно проникающих сеток с использованием разных физико-химических методов модификации компонентов. Введение при этом в шивки компонентов биodeградируемых фрагментов позволит приблизить гелевый имплантат к тканям организма в плане физиологической перестройки каркаса в процессе тканевой дифференцировки.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Cao H., Duan L., Zhang Y., Cao J., Zhang K. Current hydrogel advances in physicochemical and biological response-driven biomedical application diversity // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021. Vol. 6. P. 426. DOI: 10.1038/s41392-021-00830-x.
2. Acciaretto F., Vesentini S., Cipolla L. Fabrication strategies towards hydrogels for biomedical application: chemical and mechanical insights // *Chemistry – an Asian Journal*. 2022. Vol. 17, no. 22. P. e202200797. DOI: 10.1002/asia.202200797.
3. Ho T.-C., Chang C.-C., Chan H.-P., Chung T.-W., Shu C.-W., Chuang K.-P., et al. Hydrogels: properties and applications in biomedicine // *Molecules*. 2022. Vol. 27, no. 9. P. 2902. DOI: 10.3390/molecules27092902.
4. Yilmaz Y., Gelir A., Salehli F., Nigmatullin R.R., Arbuzov A.A. Dielectric study of neutral and charged hydrogels during the swelling process // *Journal of Chemical Physics*. 2006. Vol. 125, no. 23. P. 234705. DOI: 10.1063/1.2349480.
5. Chavan Y.R., Tambe S.M., Jain D.D., Khairnar S.V., Amin P.D. Redefining the importance of polylactide-co-glycolide acid (PLGA) in drug delivery // *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 2022. Vol. 80, no. 5. P. 603–616. DOI: 10.1016/j.pharma.2021.11.009.
6. Buxton A.N., Zhu J., Marchant R., West J.L., Yoo J.U., Johnstone B. Design and characterization of poly(ethylene glycol) photopolymerizable semi-interpenetrating networks for chondrogenesis of human mesenchymal stem cells // *Tissue Engineering*. 2007. Vol. 13, no. 10. P. 2549–2560. DOI: 10.1089/ten.2007.0075.
7. Kasiński A., Zielińska-Pisklak M., Oledzka E., Sobczak M. Smart hydrogels – synthetic stimuli-responsive antitumor drug release systems // *International Journal of Nanomedicine*. 2020. Vol. 15. P. 4541–4572. DOI: 10.2147/IJN.S248987.
8. Lu X., Perera T.H., Aria A.B., Smith Callahan L.A. Polyethylene glycol in spinal cord injury repair: a critical review // *Journal of Experimental Pharmacology*. 2018. Vol. 10. P. 37–49. DOI: 10.2147/JEP.S148944.
9. Peppas N.A., Keys K.B., Torres-Lugo M., Lowman A.M. Poly(ethylene glycol)-containing hydrogels in drug delivery // *Journal of Controlled Release*. 1999. Vol. 62, no. 1–2. P. 81–87. DOI: 10.1016/s0168-3659(99)00027-9.
10. Wang Z., Ye Q., Yu S., Akhavan B. Poly ethylene glycol (PEG)-based hydrogels for drug delivery in cancer therapy: a comprehensive review // *Advanced Healthcare Materials*. 2023. Vol. 12, no. 18. P. 2300105. DOI: 10.1002/adhm.202300105.
11. Beamish J.A., Zhu J., Kottke-Marchant K., Marchant R.E. The effects of monoacrylated poly(ethylene glycol) on the properties of poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels used for tissue engineering // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2010. Vol. 92A, no. 2. P. 441–450. DOI: 10.1002/jbm.a.32353.
12. Nguyen K.T., West J.L. Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications // *Biomaterials*. 2002. Vol. 23, no. 22. P. 4307–4314. DOI: 10.1016/S0142-9612(02)00175-8.
13. Rydholm A.E., Bowman C.N., Anseth K.S. Degradable thiol-acrylate photopolymers: polymerization and degradation behavior of an in situ forming biomaterial // *Biomaterials*. 2005. Vol. 26, no. 22. P. 4495–4506. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.11.046.
14. Shi J., Yu L., Ding J. PEG-based thermosensitive and biodegradable hydrogels // *Acta Biomaterialia*. 2021. Vol. 128. P. 42–59. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.04.009.
15. Saito G., Swanson J.A., Lee K.-D. Drug delivery strategy utilizing conjugation via reversible disulfide linkages: role and site of cellular reducing activities // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2003. Vol. 55, no. 2. P. 199–215. DOI: 10.1016/s0169-409x(02)00179-5.
16. Chen X., Zhang J., Wu K., Wu X., Tang J., Cui S., et al. Visualizing the *in vivo* evolution of an injectable and thermosensitive hydrogel using tri-modal bioimaging // *Small Methods*. 2020. Vol. 4, no. 9. P. 2000310. DOI: 10.1002/smt.202000310.
17. Jeong Y., Joo M.K., Bahk K.H., Choi Y.Y., Kim H.-T., Kim W.-K., et al. Enzymatically degradable temperature-sensitive polypeptide as a new in-situ gelling biomaterial // *Journal of Controlled Release*. 2009. Vol. 137, no. 1. P. 25–30. DOI: 10.1016/j.jconrel.2009.03.008.
18. Nuttelman C.R., Tripodi M.C., Anseth K.S. Synthetic hydrogel niches that promote hMSC viability // *Matrix Biology*. 2005. Vol. 24, no. 3. P. 208–218. DOI: 10.1016/j.matbio.2005.03.004.
19. Ruoslahti E. The RGD story: a personal account // *Matrix Biology*. 2003. Vol. 22, no. 6. P. 459–465. DOI: 10.1016/s0945-053x(03)00083-0.
20. Bao Z., Gao M., Fan X., Cui Y., Yang J., Peng X., et al. Development and characterization of a photo-cross-linked functionalized type-I collagen (*Oreochromis niloticus*) and polyethylene glycol diacrylate hydrogel // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020. Vol. 155. P. 163–173. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.03.210.
21. Zhu J., Tang C., Kottke-Marchant K., Marchant R.E. Design and synthesis of biomimetic hydrogel scaffolds with controlled organization of cyclic RGD peptides // *Bioconjugate Chemistry*. 2009. Vol. 20, no. 2. P. 333–339. DOI: 10.1021/bc800441v.
22. Mann B.K., Gobin A.S., Tsai A.T., Schmedlen R.H., West J.L. Smooth muscle cell growth in photopolymerized hydrogels with cell adhesive and proteolytically degradable domains: synthetic ECM analogs for tissue engineering // *Biomaterials*. 2001. Vol. 22, no. 22. P. 3045–3051. DOI: 10.1016/s0142-9612(01)00051-5.
23. Naghdi P., Tiraihi T., Ganji F., Darabi S., Taheri T., Kazemi H. Survival, proliferation and differentiation enhancement of neural stem cells cultured in three-dimensional polyethylene glycol-RGD hydrogel with tenascin // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2016. Vol. 10, no. 3. P. 199–208. DOI: 10.1002/term.1958.
24. Cheung C.Y., McCartney S.J., Anseth K.S. Synthesis of polymerizable superoxide dismutase mimetics to reduce reactive oxygen species damage in transplanted biomedical devices // *Advanced Functional Materials*. 2008. Vol. 18, no. 20. P. 3119–3126. DOI: 10.1002/adfm.200800566.
25. Shi J., Yu L., Ding J. PEG-based thermosensitive and biodegradable hydrogels // *Acta Biomaterialia*. 2021. Vol. 128. P. 42–59. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.04.009.
26. Luan J., Zhang Z., Shen W., Chen Y., Yang X., Chen X., et al. Thermogel loaded with low-dose paclitaxel as a facile coating to alleviate periprosthetic fibrous capsule formation // *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2018. Vol. 10, no. 36. P. 30235–30246. DOI: 10.1021/acsami.8b13548.

27. Yang X., Chen X., Wang Y., Xu G., Yu L., Ding J. Sustained release of lipophilic gemcitabine from an injectable polymeric hydrogel for synergistically enhancing tumor chemoradiotherapy // *Chemical Engineering Journal*. 2020. Vol. 396. P. 125320. DOI: 10.1016/j.cej.2020.125320.
28. Zentner G.M., Rath, R., Shih C., McRea J.C., Seo M.-H., Oh H., et al. Biodegradable block copolymers for delivery of proteins and water-insoluble drugs // *Journal of Controlled Release*. 2001. Vol. 72, no. 1–3. P. 203–215. DOI: 10.1016/s0168-3659(01)00276-0.
29. Nayak A.K., Panigrahi P.P. Solubility enhancement of etoricoxib by cosolvency approach // *International Scholarly Research Network*. 2012. P. 820653. DOI: 10.5402/2012/820653.
30. D'souza A.A., Shegokar R. Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications // *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2016. Vol. 13, no. 9. P. 1257–1275. DOI: 10.1080/17425247.2016.1182485.
31. Zhang L., Shen W., Luan J., Yang D., Wei G., Yu L., et al. Sustained intravitreal delivery of dexamethasone using an injectable and biodegradable thermogel // *Acta Biomaterialia*. 2015. Vol. 23. P. 271–281. DOI: 10.1016/j.actbio.2015.05.005.
32. Sun J., Liu X., Le Y., Tang M., Dai Z., Yang X., et al. Sustained subconjunctival delivery of cyclosporine A using thermogelling polymers for glaucoma filtration surgery // *Journal of Materials Chemistry B*. 2017. Vol. 5, no. 31. P. 6400–6411. DOI: 10.1039/C7TB01556A.
33. Choi S., Baudys M., Kim S.W. Control of blood glucose by novel GLP-1 delivery using biodegradable triblock copolymer of PLGA-PEG-PLGA in type 2 diabetic rats // *Pharmaceutical Research*. 2004. Vol. 21. P. 827–831. DOI: 10.1023/B:PHAM.0000026435.27086.94.
34. Zhuang Y., Yang X., Li Y., Chen Y., Peng X., Yu L., et al. Sustained release strategy designed for lixisenatide delivery to synchronously treat diabetes and associated complications // *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2019. Vol. 11, no. 33. P. 29604–29618. DOI: 10.1021/acsami.9b10346.
35. Chen Y., Shi J., Zhang Y., Miao J., Zhao Z., Jin X., et al. An injectable thermosensitive hydrogel loaded with an ancient natural drug colchicine for myocardial repair after infarction // *Journal of Materials Chemistry B*. 2020. Vol. 8, no. 5. P. 980–992. DOI: 10.1039/C9TB02523E.
36. Liu Y., Chen X., Li S., Guo Q., Xie J., Yu L., et al. Calcitonin-loaded thermosensitive hydrogel for long-term antiosteopenia therapy // *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2017. Vol. 9, no. 28. P. 23428–23440. DOI: 10.1021/acsami.7b05740.
37. Seo B.-B., Koh J.-T., Song S.-C. Tuning physical properties and BMP-2 release rates of injectable hydrogel systems for an optimal bone regeneration effect // *Biomaterials*. 2017. Vol. 122. P. 91–104. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.01.016.
38. Zhang Y., Zhang J., Chang F., Xu W., Ding J. Repair of full-thickness articular cartilage defect using stem cell-encapsulated thermogel // *Materials Science and Engineering: C*. 2018. Vol. 88. P. 79–87. DOI: 10.1016/j.msec.2018.02.028.
39. Курбанбаева А.Э., Холмунинова Д.А., Зарипова Р.Ш. Гидрогели на основе акриловой кислоты и диаминасоединений // *Universum: химия и биология*. 2023. N 9-2. С. 20–25. DOI: 10.32743/UniChem.2023.111.9.15925. EDN: VEOZNX.
40. Ito T., Yamaguchi S., Soga D., Ueda K., Yoshimoto T., Koyama Y. Water-absorbing bioadhesive poly(acrylic acid)/polyvinylpyrrolidone complex sponge for hemostatic agents // *Bioengineering*. 2022. Vol. 9, no. 12. P. 755. DOI: 10.3390/bioengineering9120755.
41. Miramini S., Fegan K.L., Green N.C., Espino D.M., Zhang L., Thomas-Seale L.E.J. The status and challenges of replicating the mechanical properties of connective tissues using additive manufacturing // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2020. Vol. 103. P. 103544. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2019.103544.
42. Roig-Sanchez S., Kam D., Malandain N., Sachyani-Keneth E., Shoseyov O., Magdassi S., et al. One-step double network hydrogels of photocurable monomers and bacterial cellulose fibers // *Carbohydrate Polymers*. 2022. Vol. 294. P. 119778. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.119778.
43. Alfahid L., Seddon W.D., Williams N.H., Geoghegan M. Double-network hydrogels improve pH-switchable adhesion // *Soft Matter*. 2016. Vol. 12, no. 22. P. 5022–5028. DOI: 10.1039/c6sm00656f.
44. Champeau M., Póvoa V., Militão L., Cabrini F.M., Picheth G.F., Meneau F., et al. Supramolecular poly(acrylic acid)/F127 hydrogel with hydration-controlled nitric oxide release for enhancing wound healing // *Acta Biomaterialia*. 2018. Vol. 74. P. 312–325. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.05.025.
45. Liu B., Wang Y., Miao Y., Zhang X., Fan Z., Singh G., et al. Hydrogen bonds autonomously powered gelatin methacrylate hydrogels with super-elasticity, self-heal and underwater self-adhesion for sutureless skin and stomach surgery and E-skin // *Biomaterials*. 2018. Vol. 171. P. 83–96. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.04.023.
46. Jin N.Z., Gopinath S.C. Potential blood clotting factors and anticoagulants // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016. Vol. 84. P. 356–365. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.09.057.
47. Ying H., Zhou J., Wang M., Su D., Ma Q., Lv G., et al. *In situ* formed collagen-hyaluronic acid hydrogel as biomimetic dressing for promoting spontaneous wound healing // *Materials Science and Engineering: C*. 2019. Vol. 101. P. 487–498. DOI: 10.1016/j.msec.2019.03.093.
48. Zhang X., Wan H., Lan W., Miao F., Qin M., Wei Y., et al. Fabrication of adhesive hydrogels based on poly(acrylic acid) and modified hyaluronic acid // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2022. Vol. 126. P. 105044. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2021.105044.
49. Ito T., Otani N., Fujii K., Mori K., Eriguchi M., Koyama Y. Bioadhesive and biodissolvable hydrogels consisting of water-swallowable poly(acrylic acid)/poly(vinylpyrrolidone) complexes // *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2020. Vol. 108, no. 2. P. 503–512. DOI: 10.1002/jbm.b.34407.
50. Wang Y., Wang J., Yuan Z., Han H., Li T., Li L., et al. Chitosan cross-linked poly(acrylic acid) hydrogels: drug release control and mechanism // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2017. Vol. 152. P. 252–259. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2017.01.008.
51. Hejčl A., Růžička J., Kekulová K., Svobodová B., Proks V., Macková H., et al. Modified methacrylate hydrogels improve tissue repair after spinal cord injury // *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 19, no. 9. P. 2481. DOI: 10.3390/ijms19092481.

52. Engler A.J., Sen S., Sweeney H.L., Discher D.E. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification // *Cell*. 2006. Vol. 126, no. 4. P. 677–689. DOI: 10.1016/j.cell.2006.06.044.
53. Cameron A.R., Frith J.E., Cooper-White J.J. The influence of substrate creep on mesenchymal stem cell behaviour and phenotype // *Biomaterials*. 2011. Vol. 32, no. 26. P. 5979–5993. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.04.003.
54. Prouvé E., Drouin B., Chevallier P., Rémy M., Durrieu M.-C., Laroche G. Evaluating poly(acrylamide-

co-acrylic acid) hydrogels stress relaxation to direct the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells // *Macromolecular Bioscience*. 2021. Vol. 21, no. 6. P. 2100069. DOI: 10.1002/mabi.202100069.

55. Khiabani S.S., Aghazadeh M., Rakhtshah J., Davaran S. A review of hydrogel systems based on poly(*N*-isopropyl acrylamide) for use in the engineering of bone tissues // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2021. Vol. 208. P. 112035. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2021.112035.

REFERENCES

1. Cao H., Duan L., Zhang Y., Cao J., Zhang K. Current hydrogel advances in physicochemical and biological response-driven biomedical application diversity. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021;6:426. DOI: 10.1038/s41392-021-00830-x.
2. Acciaretto F., Vesentini S., Cipolla L. Fabrication strategies towards hydrogels for biomedical application: chemical and mechanical insights. *Chemistry – an Asian Journal*. 2022;17(22):e202200797. DOI: 10.1002/asia.202200797.
3. Ho T.-C., Chang C.-C., Chan H.-P., Chung T.-W., Shu C.-W., Chuang K.-P., et al. Hydrogels: properties and applications in biomedicine. *Molecules*. 2022;27(9):2902. DOI: 10.3390/molecules27092902.
4. Yilmaz Y., Gelir A., Salehli F., Nigmatullin R.R., Arbuzov A.A. Dielectric study of neutral and charged hydrogels during the swelling process. *Journal of Chemical Physics*. 2006;125(23):234705. DOI: 10.1063/1.2349480.
5. Chavan Y.R., Tambe S.M., Jain D.D., Khairnar S.V., Amin P.D. Redefining the importance of polylactide-co-glycolide acid (PLGA) in drug delivery. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 2022;80(5):603-616. DOI: 10.1016/j.pharma.2021.11.009.
6. Buxton A.N., Zhu J., Marchant R., West J.L., Yoo J.U., Johnstone B. Design and characterization of poly(ethylene glycol) photopolymerizable semi-interpenetrating networks for chondrogenesis of human mesenchymal stem cells. *Tissue Engineering*. 2007;13(10):2549-2560. DOI: 10.1089/ten.2007.0075.
7. Kasiński A., Zielińska-Pisklak M., Oledzka E., Sobczak M. Smart hydrogels – synthetic stimuli-responsive antitumor drug release systems. *International Journal of Nanomedicine*. 2020;15:4541-4572. DOI: 10.2147/IJN.S248987.
8. Lu X., Perera T.H., Aria A.B., Smith Callahan L.A. Polyethylene glycol in spinal cord injury repair: a critical review. *Journal of Experimental Pharmacology*. 2018;10:37-49. DOI: 10.2147/JEP.S148944.
9. Peppas N.A., Keys K.B., Torres-Lugo M., Lowman A.M. Poly(ethylene glycol)-containing hydrogels in drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 1999;62(1-2):81-87. DOI: 10.1016/s0168-3659(99)00027-9.
10. Wang Z., Ye Q., Yu S., Akhavan B. Poly ethylene glycol (PEG)-based hydrogels for drug delivery in cancer therapy: a comprehensive review. *Advanced Healthcare Materials*. 2023;12(18):2300105. DOI: 10.1002/adhm.202300105.
11. Beamish J.A., Zhu J., Kottke-Marchant K., Marchant R.E. The effects of monoacrylated poly(ethylene glycol) on the properties of poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels used for tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2010;92A(2):441-450. DOI: 10.1002/jbm.a.32353.
12. Nguyen K.T., West J.L. Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications. *Biomaterials*. 2002;23(22):4307-4314. DOI: 10.1016/S0142-9612(02)00175-8.
13. Rydholm A.E., Bowman C.N., Anseth K.S. Degradable thiol-acrylate photopolymers: polymerization and degradation behavior of an in situ forming biomaterial. *Biomaterials*. 2005;26(22):4495-4506. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.11.046.
14. Shi J., Yu L., Ding J. PEG-based thermosensitive and biodegradable hydrogels. *Acta Biomaterialia*. 2021;128:42-59. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.04.009.
15. Saito G., Swanson J.A., Lee K.-D. Drug delivery strategy utilizing conjugation via reversible disulfide linkages: role and site of cellular reducing activities. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2003;55(2):199-215. DOI: 10.1016/s0169-409x(02)00179-5.
16. Chen X., Zhang J., Wu K., Wu X., Tang J., Cui S., et al. Visualizing the *in vivo* evolution of an injectable and thermosensitive hydrogel using tri-modal bioimaging. *Small Methods*. 2020;4(9):2000310. DOI: 10.1002/smt.202000310.
17. Jeong Y., Joo M.K., Bahk K.H., Choi Y.Y., Kim H.-T., Kim W.-K., et al. Enzymatically degradable temperature-sensitive polypeptide as a new in-situ gelling biomaterial. *Journal of Controlled Release*. 2009;137(1):25-30. DOI: 10.1016/j.jconrel.2009.03.008.
18. Nuttelman C.R., Tripodi M.C., Anseth K.S. Synthetic hydrogel niches that promote hMSC viability. *Matrix Biology*. 2005;24(3):208-218. DOI: 10.1016/j.matbio.2005.03.004.
19. Ruoslahti E. The RGD story: a personal account. *Matrix Biology*. 2003;22(6):459-465. DOI: 10.1016/s0945-053x(03)00083-0.
20. Bao Z., Gao M., Fan X., Cui Y., Yang J., Peng X., et al. Development and characterization of a photo-cross-linked functionalized type-I collagen (*Oreochromis niloticus*) and polyethylene glycol diacrylate hydrogel. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;155:163-173. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.03.210.
21. Zhu J., Tang C., Kottke-Marchant K., Marchant R.E. Design and synthesis of biomimetic hydrogel scaffolds with controlled organization of cyclic RGD peptides. *Bioconjugate Chemistry*. 2009;20(2):333-339. DOI: 10.1021/bc800441v.
22. Mann B.K., Gobin A.S., Tsai A.T., Schmedlen R.H., West J.L. Smooth muscle cell growth in photopolymerized hydrogels with cell adhesive and proteolytically degradable domains: synthetic ECM analogs for tissue engineering. *Biomaterials*. 2001;22(22):3045-3051. DOI: 10.1016/s0142-9612(01)00051-5.
23. Naghdi P., Tiraihi T., Ganji F., Darabi S., Taheri T., Kazemi H. Survival, proliferation and differentiation

- enhancement of neural stem cells cultured in three-dimensional polyethylene glycol-RGD hydrogel with tenascin. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2016;10(3):199-208. DOI: 10.1002/term.1958.
- 24.** Cheung C.Y., McCartney S.J., Anseth K.S. Synthesis of polymerizable superoxide dismutase mimetics to reduce reactive oxygen species damage in transplanted biomedical devices. *Advanced Functional Materials*. 2008;18(20):3119-3126. DOI: 10.1002/adfm.200800566.
- 25.** Shi J., Yu L., Ding J. PEG-based thermosensitive and biodegradable hydrogels. *Acta Biomaterialia*. 2021;128:42-59. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.04.009.
- 26.** Luan J., Zhang Z., Shen W., Chen Y., Yang X., Chen X., et al. Thermogel loaded with low-dose paclitaxel as a facile coating to alleviate periprosthetic fibrous capsule formation. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2018;10(36):30235-30246. DOI: 10.1021/acsami.8b13548.
- 27.** Yang X., Chen X., Wang Y., Xu G., Yu L., Ding J. Sustained release of lipophilic gemcitabine from an injectable polymeric hydrogel for synergistically enhancing tumor chemoradiotherapy. *Chemical Engineering Journal*. 2020;396:125320. DOI: 10.1016/j.cej.2020.125320.
- 28.** Zentner G.M., Rath, R., Shih C., McRea J.C., Seo M.-H., Oh H., et al. Biodegradable block copolymers for delivery of proteins and water-insoluble drugs. *Journal of Controlled Release*. 2001;72(1-3):203-215. DOI: 10.1016/S0168-3659(01)00276-0.
- 29.** Nayak A.K., Panigrahi P.P. Solubility enhancement of etoricoxib by cosolvency approach. *International Scholarly Research Network*. 2012;820653. DOI: 10.5402/2012/820653.
- 30.** D'souza A.A., Shegokar R. Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2016;13(9):1257-1275. DOI: 10.1080/17425247.2016.1182485.
- 31.** Zhang L., Shen W., Luan J., Yang D., Wei G., Yu L., et al. Sustained intravitreal delivery of dexamethasone using an injectable and biodegradable thermogel. *Acta Biomaterialia*. 2015;23:271-281. DOI: 10.1016/j.actbio.2015.05.005.
- 32.** Sun J., Liu X., Le Y., Tang M., Dai Z., Yang X., et al. Sustained subconjunctival delivery of cyclosporine A using thermogelling polymers for glaucoma filtration surgery. *Journal of Materials Chemistry B*. 2017;5(31):6400-6411. DOI: 10.1039/C7TB01556A.
- 33.** Choi S., Baudys M., Kim S.W. Control of blood glucose by novel GLP-1 delivery using biodegradable triblock copolymer of PLGA-PEG-PLGA in type 2 diabetic rats. *Pharmaceutical Research*. 2004;21:827-831. DOI: 10.1023/B:PHAM.0000026435.27086.94.
- 34.** Zhuang Y., Yang X., Li Y., Chen Y., Peng X., Yu L., et al. Sustained release strategy designed for lixisenatide delivery to synchronously treat diabetes and associated complications. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2019;11(33):29604-29618. DOI: 10.1021/acsami.9b10346.
- 35.** Chen Y., Shi J., Zhang Y., Miao J., Zhao Z., Jin X., et al. An injectable thermosensitive hydrogel loaded with an ancient natural drug colchicine for myocardial repair after infarction. *Journal of Materials Chemistry B*. 2020;8(5):980-992. DOI: 10.1039/C9TB02523E.
- 36.** Liu Y., Chen X., Li S., Guo Q., Xie J., Yu L., et al. Calcitonin-loaded thermosensitive hydrogel for long-term antiosteopenia therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2017;9(28):23428-23440. DOI: 10.1021/acsami.7b05740.
- 37.** Seo B.-B., Koh J.-T., Song S.-C. Tuning physical properties and BMP-2 release rates of injectable hydrogel systems for an optimal bone regeneration effect. *Biomaterials*. 2017;122:91-104. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.01.016.
- 38.** Zhang Y., Zhang J., Chang F., Xu W., Ding J. Repair of full-thickness articular cartilage defect using stem cell-encapsulated thermogel. *Materials Science and Engineering: C*. 2018;88:79-87. DOI: 10.1016/j.msec.2018.02.028.
- 39.** Kurbanbayeva A., Kholmuminova D., Zaripova R. Hydrogels based on acrylic acid and diamine compounds. *Universum: khimiya i biologiya*. 2023;9-2:20-25. (In Russian). DOI: 10.32743/UniChem.2023.111.9.15925. EDN: VEOZNX.
- 40.** Ito T., Yamaguchi S., Soga D., Ueda K., Yoshimoto T., Koyama Y. Water-absorbing bioadhesive poly(acrylic acid)/polyvinylpyrrolidone complex sponge for hemostatic agents. *Bioengineering*. 2022;9(12):755. DOI: 10.3390/bioengineering9120755.
- 41.** Miramini S., Fegan K.L., Green N.C., Espino D.M., Zhang L., Thomas-Seale L.E.J. The status and challenges of replicating the mechanical properties of connective tissues using additive manufacturing. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2020;103:103544. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2019.103544.
- 42.** Roig-Sanchez S., Kam D., Malandain N., Sachyani-Keneth E., Shoseyov O., Magdassi S., et al. One-step double network hydrogels of photocurable monomers and bacterial cellulose fibers. *Carbohydrate Polymers*. 2022;294:119778. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.119778.
- 43.** Alfahid L., Seddon W.D., Williams N.H., Geoghegan M. Double-network hydrogels improve pH-switchable adhesion. *Soft Matter*. 2016;12(22):5022-5028. DOI: 10.1039/c6sm00656f.
- 44.** Champeau M., Póvoa V., Militão L., Cabrini F.M., Picheth G.F., Meneau F., et al. Supramolecular poly(acrylic acid)/F127 hydrogel with hydration-controlled nitric oxide release for enhancing wound healing. *Acta Biomaterialia*. 2018;74:312-325. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.05.025.
- 45.** Liu B., Wang Y., Miao Y., Zhang X., Fan Z., Singh G., et al. Hydrogen bonds autonomously powered gelatin methacrylate hydrogels with super-elasticity, self-heal and underwater self-adhesion for sutureless skin and stomach surgery and E-skin. *Biomaterials*. 2018;171:83-96. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.04.023.
- 46.** Jin N.Z., Gopinath S.C. Potential blood clotting factors and anticoagulants. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016;84:356-365. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.09.057.
- 47.** Ying H., Zhou J., Wang M., Su D., Ma Q., Lv G., et al. *In situ* formed collagen-hyaluronic acid hydrogel as biomimetic dressing for promoting spontaneous wound healing. *Materials Science and Engineering: C*. 2019;101:487-498. DOI: 10.1016/j.msec.2019.03.093.
- 48.** Zhang X., Wan H., Lan W., Miao F., Qin M., Wei Y., et al. Fabrication of adhesive hydrogels based on poly (acrylic acid) and modified hyaluronic acid. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2022;126:105044. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2021.105044.
- 49.** Ito T., Otani N., Fujii K., Mori K., Eriguchi M., Koyama Y. Bioadhesive and biodissolvable hydrogels consisting of water-swallowable poly(acrylic acid)/poly(vinylpyrrolidone) complexes. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2020;108(2):503-512. DOI: 10.1002/jbm.b.34407.

50. Wang Y., Wang J., Yuan Z., Han H., Li T., Li L., et al. Chitosan cross-linked poly(acrylic acid) hydrogels: drug release control and mechanism. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2017;152:252-259. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2017.01.008.

51. Hejčl A., Růžička J., Kekulová K., Svobodová B., Proks V., Macková H., et al. Modified methacrylate hydrogels improve tissue repair after spinal cord injury. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(9):2481. DOI: 10.3390/ijms19092481.

52. Engler A.J., Sen S., Sweeney H.L., Discher D.E. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*. 2006;126(4):677-689. DOI: 10.1016/j.cell.2006.06.044.

53. Cameron A.R., Frith J.E., Cooper-White J.J. The influence of substrate creep on mesenchymal stem cell behaviour and phenotype. *Biomaterials*. 2011;32(26):5979-5993. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.04.003.

54. Prouvé E., Drouin B., Chevallier P., Rémy M., Durrieu M.-C., Laroche G. Evaluating poly(acrylamide-co-acrylic acid) hydrogels stress relaxation to direct the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Macromolecular Bioscience*. 2021;21(6):2100069. DOI: 10.1002/mabi.202100069.

55. Khiabani S.S., Aghazadeh M., Rakhtshah J., Davaran S. A review of hydrogel systems based on poly(*N*-isopropyl acrylamide) for use in the engineering of bone tissues. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2021;208:112035. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2021.112035.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Дремина Наталья Николаевна,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Иркутский научный центр
хирургии и травматологии,
664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1,
Российская Федерация,
✉ drema76@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2540-4525>

Трухан Ирина Сергеевна,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Иркутский научный центр
хирургии и травматологии,
664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1,
Российская Федерация,
predel4@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0270-404X>

Шурыгина Ирина Александровна,

д.м.н., профессор РАН,
заместитель директора по научной работе,
Иркутский научный центр
хирургии и травматологии,
664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1,
Российская Федерация,
irinashurygina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Шурыгин Михаил Геннадьевич,

д.м.н., заведующий научно-лабораторным отделом,
Иркутский научный центр
хирургии и травматологии,
664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1,
Российская Федерация,
mshurygin@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-5921-0318>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Natalya N. Dremina,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Irkutsk Scientific Center of Surgery
and Traumatology,
6, Bortsov Revolyutsii St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
✉ drema76@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2540-4525>

Irina S. Trukhan,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Irkutsk Scientific Center of Surgery
and Traumatology,
6, Bortsov Revolyutsii St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
predel4@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0270-404X>

Irina A. Shurygina,

Dr. Sci. (Medicine),
Professor of the Russian Academy of Sciences, Deputy
Director for Research,
Irkutsk Scientific Center of Surgery
and Traumatology,
6, Bortsov Revolyutsii St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
irinashurygina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Michael G. Shurygin,

Dr. Sci. (Medicine), Head of Research
and Laboratory Department,
Irkutsk Scientific Center of Surgery
and Traumatology,
6, Bortsov Revolyutsii St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
mshurygin@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-5921-0318>

Вклад авторов

Н.Н. Дремина – разработка концепции, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.
И.С. Трухан – разработка концепции.
И.А. Шурыгина – разработка концепции, редактирование рукописи, научное руководство.
М.Г. Шурыгин – разработка концепции, редактирование рукописи

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 19.03.2024.
Одобрена после рецензирования 29.09.2024.
Принята к публикации 18.08.2025.

Contribution of the authors

Natalya N. Dremina – conceptualization, writing – original draft, editing.
Irina S. Trukhan – conceptualization.
Irina A. Shurygina – conceptualization, editing, supervision.
Michael G. Shurygin – conceptualization, editing.

Conflict of interest

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 19.03.2024.
Approved after reviewing 29.09.2024.
Accepted for publication 18.08.2025.



Конденсация 2-хлорпиридиний хлорида с тиомочевинной: строение образующегося продукта и его использование в качестве блескообразующей добавки в электролит никелирования

В.А. Грабельных*✉, Н.Г. Сосновская**, А.А. Истомина**, А.И. Албанов*,
Н.А. Корчевин*.*, Н.В. Истомина**, И.Б. Розенцвейг*.*.*.*

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

**Ангарский государственный технический университет, Ангарск, Российская Федерация

***Иркутский государственный университет, Иркутск, Российская Федерация

Аннотация: С целью исключения влияния основного центра – атома азота в пиридине – на устойчивость получаемой из 2-хлорпиридина изотиурониевой соли предварительно получена и впервые спектрально охарактеризована протонированная форма – хлорид 2-хлорпиридиния. Синтезированное соединение легко конденсируется с тиомочевинной с образованием изотиурониевой соли. По данным спектроскопии ядерного магнитного резонанса (^1H и ^{13}C) показано, что соль существует в виде двух устойчивых конформеров относительно связи пиридин $\text{C2}-\text{SC}(\text{NH}_2)_2$, которые в спектрах ядерного магнитного резонанса ^{13}C наиболее существенно различаются смещением сигнала C4 в пиридиновом цикле относительно сигнала в незаряженном 2-хлорпиридине. Присутствие двух устойчивых конформеров определяется наличием в α -положении дополнительного основного центра, что может быть общей закономерностью для соединений подобного типа. Синтезированный пиридиний изотиуроний хлорид был исследован в качестве блескообразующей добавки в электролит никелирования. Предварительные испытания с использованием ячейки Хулла позволили выявить рабочие диапазоны концентраций добавки 0,10–0,45 г/л и рабочих плотностей тока (3–20 А/дм²). Обнаружено, что введение добавки в концентрации 0,40–0,45 г/л в сульфатный электролит никелирования позволяет получить с высоким выходом по току блестящее никелевое покрытие, обладающее низкой пористостью и высокой твердостью. Микротвердость увеличивается с увеличением концентрации введенной добавки.

Ключевые слова: 2-хлорпиридин, хлорид 2-хлорпиридиния, дихлорид 2-пиридинилизотиурония, конформеры, спектры ядерного магнитного резонанса ^{13}C , 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 (г. Иркутск, Россия).

Для цитирования: Грабельных В.А., Сосновская Н.Г., Истомина А.А., Албанов А.И., Корчевин Н.А., Истомина Н.В. [и др.]. Конденсация 2-хлорпиридиний хлорида с тиомочевинной: строение образующегося продукта и его использование в качестве блескообразующей добавки в электролит никелирования // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 318–327. DOI: 10.21285/achb.994. EDN: OCHSIR.

Condensation of 2-chloropyridinium chloride with thiourea: Structure of the resulting product and its use as a brightener in nickel plating electrolytes

Valentina A. Grabelnykh*✉, Nina G. Sosnovskaya**,
Alena A. Istomina**, Aleksandr I. Albanov*, Nikolai A. Korchevin***,
Nataliya V. Istomina**, Igor B. Rozentsveig****

*A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russian Federation

**Angarsk State Technical University, Angarsk, Russian Federation

***Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The protonated form, 2-chloropyridinium chloride, was synthesized and characterized spectroscopically for the first time to eliminate the influence of the basic nitrogen center in pyridine on the stability of the resulting isothiuronium salt. This compound readily condensed with thiourea to form the corresponding isothiuronium salt. Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy (^1H and ^{13}C) revealed that the salt exists as two stable conformers differing in the orientation around the C2–SC(NH₂)₂ bond. These conformers are most clearly distinguished in the ^{13}C NMR spectra by the chemical shift of the C4 signal in the pyridine ring relative to its position in neutral 2-chloropyridine. The presence of two stable conformers, determined by an additional basic center in the α -position, may represent a general pattern for this class of compounds. The synthesized pyridinium isothiuronium chloride was investigated as a brightener in a nickel plating electrolyte. Preliminary tests using a Hull cell identified an effective concentration range of 0.10–0.45 g/L and operational current densities of 3–20 A/dm². The addition of the agent at 0.40–0.45 g/L to a sulfate nickel plating electrolyte produced bright nickel coatings with high current efficiency, low porosity, and increased hardness. The microhardness of the coating was found to increase with the additive concentration.

Keywords: 2-chloropyridine, 2-chloropyridinium chloride, 2-pyridinylisothiuronium dichloride, conformers, ^{13}C nuclear magnetic resonance spectra, 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, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Irkutsk, Russia).

For citation: Grabelnykh V.A., Sosnovskaya N.G., Istomina A.A., Albanov A.I., Korchevin N.A., Istomina N.V., et al. Condensation of 2-chloropyridinium chloride with thiourea: Structure of the resulting product and its use as a brightener in nickel plating electrolytes. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):318-327. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.994. EDN: OCHSIR.

ВВЕДЕНИЕ

Производные пиридина занимают прочные позиции в синтезе лекарственных препаратов [1, 2] и широкого круга соединений с разносторонней биологической активностью [3]. Пиридиновые структуры содержатся во многих красителях, особенно нового поколения [4].

Наличие свободной электронной пары на пиридиновом азоте открывает возможности создания для комплексообразования эффективных лигандов [5], на основе которых разработаны каталитические системы [6], а также синтезированы хиральные комплексы с целью исследования их биологической активности [7]. С использованием 3-пиридинсульфокислоты получены протонпроводящие композитные мембраны [8], а на основе сополимеров 4-винилпиридина синтезированы сорбенты, эффективно извлекающие соединения платины(IV) [9, 10].

В последние десятилетия наметилась четкая тенденция развития исследований по влиянию пиридина, его замещенных соединений и некоторых солей пиридина на процесс электрохимического никелирования и качество образующихся покрытий при введении этих соединений в используемый электролит [11, 12]. Особое внимание при этом привлекают изотиурониевые соли, антикоррозионное [13, 14] и блескообразующее [15, 16] действие которых хорошо известно, в том числе изотиурониевая соль на основе пиридина [17], которая в тоже время может найти применение и в других направлениях, например в синтезе серосодержащих производных пиридина. Применение изотиурониевых солей в органическом синтезе хорошо известно [18]. Тем не менее конденсация 2-хлорпиридина с тиомочевинной протекает достаточно сложно, в частности, зависит от скорости добавления реагентов [17]. Кроме

того, продукт конденсации представляет собой смесь двух таутомеров: ожидаемой изотиуруниевого соли и хлорида пиридиния с изотиокарбамидным заместителем. При хранении эта смесь достаточно быстро подвергается химическим превращениям, которые провоцируются наличием основного центра (азот пиридина), способного, как известно [19], расщеплять изотиуруниевого соли.

В связи с вышесказанным целью проведенной работы являлось исследование возможности получения устойчивой изотиуруниевого соли на основе 2-хлорпиридина и изучение ее влияния на свойства никелевых покрытий.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Из 2-хлорпиридина **1** предварительно была получена соль – хлорид 2-хлорпиридиния **2**. Для этого 11,34 г (0,1 моль) 2-хлорпиридина смешивали с 20 мл диэтилового эфира и через полученный раствор пропускали ток сухого хлористого водорода до прекращения выделения осадка. После фильтрования осадок, представляющий собой целевой продукт, промывали эфиром, сушили в вакуум-эксикаторе. Получено 12,7 г (85%) хлорида 2-хлорпиридиния **2** в виде белых легкоплавких кристаллов. Найдено, %: С – 39,73; Н – 3,25; Cl – 46,86; N – 9,11. $C_5H_5NCl_2$. Вычислено, %: С – 40,00; Н – 3,33; Cl – 47,33; N – 9,33.

Спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) 1H , ^{13}C записаны на спектрометре Bruker DPX-400 (Bruker Corporation, США), рабочая частота – 400,13 и 100,62 МГц, растворитель – ДМСО- d_6 , внутренний стандарт – гексаметилдисилазан. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 7,40 (д.д.д., 1H, Н 5, $^3J = 7,3$ Гц, $^3J = 4,9$ Гц, $^4J = 0,9$ Гц); 7,5 (д., 1H, Н 3, $^3J = 7,9$ Гц); 7,84 (тр.д., 1H, Н 4, $^3J_{4,3} \sim ^3J_{4,5} = 7,9$ Гц, $^3J = 2,1$ Гц); 8,40 (д.д., 1H, Н 6, $^3J = 4,9$ Гц, $^4J = 2,1$ Гц); 8,61 (ш.с., 1H, HN). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 123,32 (С 5); 124,64 (С 3); 140,06 (С 6); 150,15 (С 4); 150,45 (С 2).

Дихлорид 2-пиридинилизотиуруния **3**. Растворяли 2,0 г (0,027 моль) тиомочевин в 25 мл этанола при температуре 60 °С и к полученному раствору добавляли раствор соли **2** (4,0 г, 0,027 моль) в 20 мл спирта. Смесь перемешивали 3 ч при температуре 75 °С. Спирт отгоняли и к полученному остатку добавляли 30 мл этилового эфира. Растворитель декантировали от образовавшегося пастообразного осадка, который сушили в вакууме. Ярко-желтая соль **3** (смесь конформеров **3a** и **3b**) образуется с количественным выходом.

Найдено, %: С – 32,62; Н – 4,39; Cl – 30,98; N – 18,41; S – 14,07. $C_6H_9N_3S_2Cl_2$. Вычислено, %: С – 32,81; Н – 3,98; Cl – 31,41; N – 18,58; S – 14,16.

Соединение **3a**. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 7,89 (уш тр., 1H, Н 5, $^3J = 6,0$ Гц); 8,10 (д., 1H, Н 3, $^3J = 7,9$ Гц); 8,44 (тр.д., 1H, Н 4, $^3J_{4,3} = 7,5$ Гц, $^3J_{4,5} = 7,8$ Гц, $^4J = 1,3$ Гц); 8,66 (уш.д., 1H, Н 6, $^3J = 5,9$ Гц); 8,61 (ш.с., 1H, HN); 9,65 [уш.д., 4H, $SC(NH_2)_2$]. Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 123,82 (С 3); 127,73 (С 5); 144,30 (С 6); 145,86 (С 4); 157,79 (С 2); 161,59 [$SC(NH_2)_2$].

Соединение **3b**. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 7,41 (д.д., 1H, Н 5, $^3J = 7,5$ Гц, $^3J = 5,3$ Гц); 7,52 (д., 1H, Н 3,

$^3J = 8,0$ Гц); 7,87 (д.д.д., 1H, Н 4, $^3J_{4,3} = 8,0$ Гц, $^3J_{4,5} = 7,5$ Гц, $^4J = 1,8$ Гц); 8,52 (уш.д., 1H, Н 6, $^3J = 5,3$ Гц); 8,61 (ш.с., 1H, HN); 9,65 [уш.д., 4H, $SC(NH_2)_2$]. Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 123,72 (С 5); 127,18 (С 3); 139,91 (С 4); 150,1 (С 6); 155,17 (С 2); [162,40 $SC(NH_2)_2$].

Соотношение соединений **3a** и **3b** = 3:1.

Блескообразующий эффект смеси соединений **3a** и **3b** исследован на гальванической установке никелирования. Установка состоит из термостатированной (50 °С) электролитической ячейки, содержащей стальной (Ст.3) прямоугольный катод, никелевый анод марки НПА-1, электроизмерительные приборы и медный кулонометр. Для нанесения покрытия использовали сульфатный электролит никелирования, содержащий сульфат никеля (270 г/л), хлорид натрия (15 г/л) и борную кислоту (40 г/л). Необходимое количество добавки (в виде смеси соединений **3a** и **3b**) для обеспечения заданной концентрации в электролите вводили непосредственно перед нанесением покрытия.

Предварительно проводили контроль работоспособности электролита и изучали влияние плотности тока и концентрации добавки на качество никелевого покрытия с помощью угловой ячейки Хулла⁴. Исследования показали, что качественные покрытия с хорошей адгезией к основному металлу могут быть получены при концентрации добавки 0,10–0,45 г/л и плотностях тока 3–20 А/дм².

Для предварительно полученных диапазонов концентраций и плотностей тока были исследованы характеристики процесса, свойства и качество получаемых покрытий (табл. 1).

Блеск покрытий определяли качественно (матовое, полублестящее, блестящее) и количественно с помощью блескомера фотоэлектрического марки БФ5-45/0/45 (ООО «Неразрушающий контроль», Россия), а затем сравнивали с результатами блеска, полученного для никелевых покрытий с тиомочевинной (принято за 100%) (рис. 1).

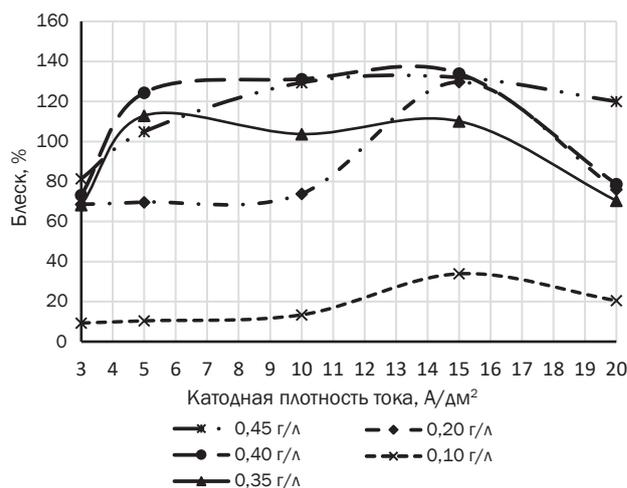


Рис. 1. Влияние концентрации добавки и плотности тока на блеск никелевых покрытий

Fig. 1. Effect of additive concentration and current density on the gloss of nickel coatings

⁴Мамаев В.И., Кудрявцев В.Н. Никелирование: учеб. пособие / под ред. В.Н. Кудрявцева. М.: Изд-во РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2014. 192 с.

Таблица 1. Характеристика никелевых покрытий

Table 1. Characteristics of nickel coatings

Концентрация добавки, г/л	Катодная плотность тока, А/дм ²	Выход по току, %	Блеск, %	Пористость никелевого покрытия, пор/см ²	Микротвердость покрытия, НВ	Качество покрытия
0,1	3	96	9,3	12,5	309	Покрытие матовое по всей поверхности, равномерное
	5	97	10,4	10,4	310	Покрытие матовое по всей поверхности, равномерное
	10	98	13,4	9,2	308	Покрытие матовое по всей поверхности, единичный питтинг
	15	98	33,9	3,7	311	Матовое покрытие по всей поверхности, единичный питтинг
	20	99	20,5	2,0	312	Матовое покрытие по всей поверхности, единичный питтинг
0,2	3	95	68,6	0,8	324	Полублестящее покрытие по всей поверхности
	5	96	69,7	1,0	328	Полублестящее покрытие по всей поверхности
	10	97	73,9	1,0	341	Полублестящее покрытие по всей поверхности
	15	98	129,7	2,2	354	Блестящее покрытие по всей поверхности
	20	98	76,0	2,5	370	Полублестящее покрытие в центре, края матовые
0,3	3	97	68,2	3,6	405	Полублестящее покрытие по всей поверхности
	5	98	112,9	4,3	467	Блестящее покрытие по всей поверхности
	10	98	103,7	5,4	499	Блестящее покрытие по всей поверхности, единичный питтинг
	15	99	110,1	1,2	548	Блестящее покрытие по всей поверхности, единичный питтинг
	20	99	70,4	4,4	581	Полублестящее покрытие по всей поверхности, питтинг
0,4	3	98	73,2	2,2	617	Полублестящее покрытие по всей поверхности
	5	98	124,4	1,3	623	Блестящее покрытие по всей поверхности
	10	99	131,2	5,4	634	Блестящее покрытие по всей поверхности
	15	99	134,0	0,9	629	Блестящее покрытие по всей поверхности
	20	99	78,7	3,3	613	Полублестящее покрытие по всей поверхности
0,45	3	98	81,4	5,9	618	Полублестящее покрытие по всей поверхности, единичный питтинг
	5	98	104,9	10,0	632	Блестящее покрытие по всей поверхности
	10	99	129,4	0,4	650	Блестящее покрытие по всей поверхности
	15	99	132,0	0,7	645	Блестящее покрытие по всей поверхности
	20	99	120,0	4,8	638	Блестящее покрытие по всей поверхности

Пористость никелевых покрытий определяли методом наложения фильтровальной бумаги, смоченной в растворе ферроцианида калия (10 г/л) и хлорида натрия (20 г/л). С помощью прибора Shimadzu HMV-2T (Shimadzu, Япония) определяли микротвердость полученных никелевых покрытий под нагрузкой 98,8 мН (HV 0,01) при времени выдержки 5 с (рис. 2).

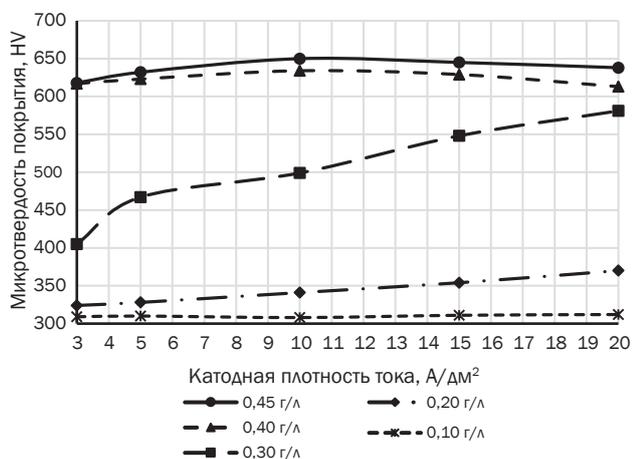


Рис. 2. Влияние концентрации добавки и плотности тока на микротвердость никелевых покрытий

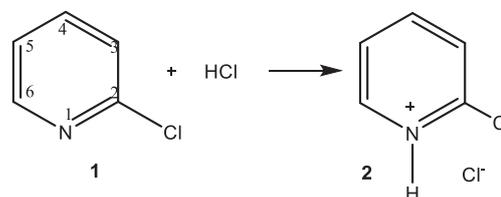
Fig. 2. Effect of additive concentration and current density on the microhardness of nickel coatings

С помощью электронного микроскопа Hitachi TM 3000 (Hitachi, Япония) с датчиком для количественного определения содержания элементов X-ray SDD XFlash 430H (Байкальский аналитический центр коллективного пользования Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН (г. Иркутск, Россия)) провели энергодисперсионный микроанализ поверхности никелевых покрытий, полученных с использованием добавки, который показал, что осадки никеля содержат в своем составе также углерод, кислород и серу.

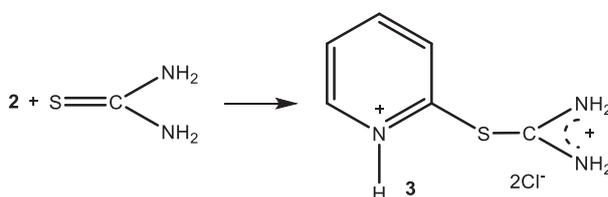
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как показано в работе [16], снижение устойчивости изотиуруниевой соли на основе пиридина определяется наличием в ее составе основного центра – атома азота в кольце. Было предположено, что предварительное протонирование этого центра позволит стабилизировать образующуюся соль. Оказалось, несмотря на то, что 2-хлорпиридин – основание более слабое,

чем пиридин (рKa сопряженных кислот – 0,72 и 5,30 соответственно²), он легко образует хлорид 2-хлорпиридиния **2**, который впервые охарактеризован методом ЯМР (¹H, ¹³C).



Полученная соль – устойчивое вещество. Образование на пиридиновом кольце положительного заряда облегчает протекание нуклеофильных реакций и обеспечивает легкую конденсацию с тиомочевинной с образованием изотиуруниевой соли **3**.



Полученный продукт во всех опытах по составу удовлетворительно отвечал данным элементного анализа, однако получить его в кристаллическом состоянии не удалось.

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C соли **3** имеют достаточно сложный вид, и их анализ с использованием методик двойного резонанса позволил предположить наличие двух устойчивых соединений **3a** и **3b** в соотношении 3:1.

Известно, что положительный заряд на атоме азота пиридинового кольца вызывает смещение сигналов в спектрах ЯМР как для протонов, так и для ядер ¹³C³. При этом сигналы углеродов С 3 и С 4 смещаются в слабое поле, а сигналы углерода С 6 – в сильное поле (для незамещенного пиридина на 7 м.д.). Введение заместителя в кольцо усложняет картину смещения сигналов, однако смещение сигнала углерода С 4 даже при наличии заместителя в положении 2 может в определенной степени служить мерой заряженности атома азота. В табл. 2 представлены химические сдвиги углерода С 4 используемых соединений (для сравнения приведены данные для самого пиридина **4** и его протонированной формы **5** из работы Г. Леви и Г. Нельсона³).

Таблица 2. Химический сдвиг ядер С 4 в спектрах ядерного магнитного резонанса ¹³C

Table 2. Chemical shift of С 4 nuclei in ¹³C NMR spectra

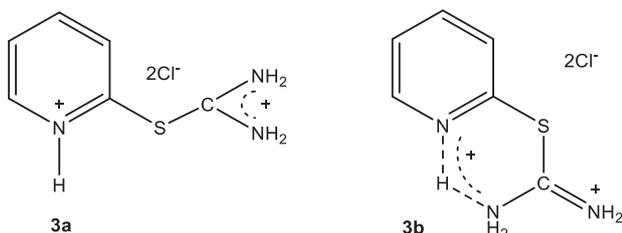
Номер соединения	4	5	1	2	3a	3b
δ, м.д.	135,9	148,3	138,0	148,9	145,8	139,9
		Δ ¹ = 12,4		Δ ² = 10,9	Δ ² = 7,8	Δ ² = 1,9

Примечание. Δ¹ – разность химических сдвигов для соединений **5** и **4**, Δ² – разность химических сдвигов для исследуемых соединений и 2-хлорпиридина **1**.

²Общая органическая химия / под ред. Д. Бартон и У.Д. Оллиса. Т. 8. Азотсодержащие гетероциклы. М.: Химия, 1985. 752 с.

³Леви Г., Нельсон Г. Руководство по ядерному магнитному резонансу углерода-13 для химиков-органиков / пер. с англ. М.: Мир, 1975. 295 с.

Из данных табл. 2 следует, что соединения **3a** и **3b** отличаются по величине заряда на атоме азота, причем в соединении **3b** она должна быть существенно ниже. Исходя из анализа спектральных данных, предложены следующие структуры для соединений **3a** и **3b**:



Эти структуры отличаются конформационным расположением изотиуриониевого фрагмента относительно связи пиридин C2–SC(NH₂)₂. В соединении **3a** положительные заряды удалены друг от друга, азот пиридинового кольца несет положительный заряд и величина Δ^2 имеет значение 7,8. Ее отклонение от Δ^1 и Δ^2 для хлорида 2-хлорпиридиния может быть обусловлено наличием атома серы во втором положении кольца. В соединении **3b** положительный заряд пиридинового азота частично смещается к одному из азотов изотиуриониевой группы. Кольцо при этом становится менее заряженным и Δ^2 снижается до 1,9 м.д.

Возможно, что взаимные переходы **3a** \rightleftharpoons **3b** затруднены из-за наличия двух положительных центров в молекуле, поэтому соотношение между конформерами в растворе не изменяется.

Таким образом, наличие в α -положении к атому углерода, на котором происходит формирование изотиуриониевого фрагмента, дополнительного основного центра провоцирует таутомерные переходы в получаемой соли [17] или стабилизирует ее возможные конформационные состояния. Подобные аналоги в литературе не найдены. Строение некоторых изотиуриониевых солей, полученное по данным рентгеноструктурного анализа, не отражает их конформационное поведение [20].

Смесь конформеров **3a** и **3b** устойчива при хранении, хорошо растворяется в воде, поэтому была исследована в качестве добавки в электролит никелирования. Как видно из данных табл. 1, повышение концентрации добавки приводит к повышению качества покрытия от равномерной матовой поверхности с единичными очагами питтинга до блестящего покрытия по всей

поверхности. При концентрации добавки 0,40–0,45 г/л и плотности тока 15 А/дм² образуется блестящее покрытие по всей поверхности с максимальным показателем блеска 132–134% относительно блестящего никелевого покрытия, полученного в сульфатном электролите с тиомочевинной.

Установлено, что пористость полученных никелевых покрытий с исследуемой смесью конформеров **3a** и **3b** составила 0,40–12,5 пор/см², что намного меньше пористости никелевого покрытия, осаждаемого с тиомочевинной (40 пор/см²). Следовательно, полученные покрытия будут иметь более высокий защитный эффект от атмосферной коррозии.

Введение в электролит смеси соединений **3a** и **3b** способствует увеличению микротвердости никелевых покрытий, при этом показано, что чем больше концентрация добавки в электролите, тем больше показатель микротвердости. При концентрации добавки 0,40–0,45 г/л микротвердость полученных покрытий в 2,5 раза больше, чем микротвердость осадков никеля, полученных из сульфатного электролита типа Уоттса без добавок.

Методом энергодисперсионного микроанализа установлено, что никелевые покрытия содержат в своем составе углерод (3–6% масс.), кислород (2–5% масс.) и серу (0,14–0,68% масс.). Однако четких корреляций между количеством серы в покрытии и концентрации добавки в электролите не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, предварительное гидрохлорирование 2-хлорпиридина в реакции с тиомочевинной обеспечивает получение устойчивой изотиуриониевой соли. Синтезированная соль существует в растворе в виде двух стабильных конформеров, обусловленных затрудненным вращением относительно связи пиридин C2–SC(NH₂)₂. Такое конформационное поведение соли определяется наличием нескольких основных центров в молекуле.

Исследование полученной соли в качестве добавки в электролит никелирования показало, что при введении добавки в электролит Уоттса в количестве 0,40–0,45 г/л обеспечивает получение равномерного блестящего покрытия с высоким выходом по току, низкой пористостью и высокой микротвердостью при плотности тока 15 А/дм².

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lukevits É. Pyridine derivatives in the drug arsenal (150 years of pyridine chemistry) // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 1995. Vol. 31. P. 639–650. DOI: 10.1007/BF01169065.
2. 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. DOI: 10.1016/j.ejmech.2009.11.039.
3. Dyadyuchenko L.V., Dotsenko V.V. Synthesis of isoxazolo[5,4-b]pyridine derivatives (microreview) // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2021. Vol. 57. P. 627–629. DOI: 10.1007/s10593-021-02959-7.
4. Леонтьев Т.Н., Лебедева А.Ю., Федорова О.А. Синтез и изучение спектральных свойств стироловых красителей на основе бензотиазола и пиридина // Успехи в химии и химической технологии. 2015. Т. 29. N 7. С. 114–116. EDN: ULVPPR.
5. 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. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.7b02439.
6. Shi S., Lei P., Szostak M. Pd-PEPSSI: a general Pd-NHC precatalyst for Suzuki–Miyaura cross-coupling of esters by C–O cleavage // Organometallics. 2017. Vol. 36, no. 19. P. 3784–3789. DOI: 10.1021/acs.organomet.7b00565.
7. Kokina T.E., Glinskaya L.A., Piryazev D.A., Eremina Y.A., Naumov D.Y., Larionov S.V., et al. Synthesis and structures of Cu,II complexes with a 2,2'-bipyridine derivative bearing

a (+)-3-carene moiety // *Russian Chemical Bulletin*. 2018. Vol. 67. P. 1251–1260. DOI: 10.1007/s11172-018-2209-1.

8. Lebedeva O.V., Chesnokova A.N., Badlueva T.V., Sipkina E.I., Rzhchitskii A.E., Pozhidaev Yu.N. Hybrid ion-exchange membranes based on heteroaromatic sulfonic acid derivatives // *Petroleum Chemistry*. 2015. Vol. 55. P. 333–338. DOI: 10.1134/S0965544115040040.

9. Lebedeva O.V., Sipkina E.I., Pozhidaev Yu.N. Adsorption of platinum(IV) by a composite based on silicon dioxide and copolymer of 4-vinylpyridine and 2-hydroxyethylmethacrylate // *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*. 2017. Vol. 53. P. 80–84. DOI: 10.1134/S2070205117010130.

10. Sipkina E.I., Lebedeva O.V., Pozhidaev Y.N., Oborina E.N. Adsorption of platinum(IV) onto composites based on silicon dioxide and vinyl acetate/1-vinylimidazole and vinyl acetate/4-vinylpyridine copolymers // *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*. 2017. Vol. 53. P. 657–662. DOI: 10.1134/S2070205117040207.

11. Сосновская Н.Г., Истомина Н.В., Богданова И.Н., Розенцвейг И.Б., Тюрин М.Д., Корчевин Н.А. Влияние условий процесса и структуры органических добавок на формирование и свойства покрытий при электрохимическом никелировании // *Физикохимия поверхности и защита материалов*. 2024. Т. 60. N 6. С. 629–653. DOI: 10.31857/S0044185624060064.

12. Шептицка Б. Влияние органических соединений на электрокристаллизацию никеля // *Электрохимия*. 2001. Т. 37. N 7. С. 805–810. EDN: IYRVHM.

13. 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 изотиуруриновых солей // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2021. Т. 11. N 2. С. 326–332. DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-2-326-332. EDN: VBVSIX.

14. Польшинский И.В., Князева Л.Г. Исследование возможности использования изотиуруриновых солей как ингибиторов коррозии // *Успехи в химии и химической технологии*. 2021. Т. 35. N 5. С. 89–91. EDN: WPWBCC.

15. Иванова А.О., Сосновская Н.Г., Никонова В.С., Леванова Е.П., Попов С.И. Использование добавок изотиуруриновых солей в технологии блестящего никелирования // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2017. Т. 7. N 4. С. 136–141. DOI: 10.21285/227-2925-2017-7-4-136-141. EDN: YMQFTF.

16. Сосновская Н.Г., Истомина Н.В., Синеговская Л.М., Розенцвейг И.Б., Корчевин Н.А. Электроосаждение блестящих никелевых покрытий из сульфатного электролита в присутствии изотиуруриновых солей // *Гальванотехника и обработка поверхности*. 2019. Т. 27. N 4. С. 4–11. DOI: 10.47188/0869-5326_2019_27_4_4. EDN: MHXVSI.

17. Грабельных В.А., Богданова И.Н., Сосновская Н.Г., Истомина Н.В., Руссавская Н.В., Кондрашов Е.В. [и др.]. 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. DOI: 10.21285/2227-2925-2022-12-4-498-505. EDN: NSNWDX.

18. 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 // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2014. Vol. 50. P. 429–433. DOI: 10.1134/S1070428014030221.

19. Cossar B.C., Fournier J.O., Fields D.L., Reynolds D.D. Preparation of thiols // *The Journal of Organic Chemistry*. 1962. Vol. 27, no. 1. P. 93–95. DOI: 10.1021/jo01048a024.

20. Кандалицева Н.В., Просенко А.Е., Добченко О.И., Стоянов Е.С. Синтез галогенидов S-алкилизотиурурирования по реакции тиомочевины с ω-(4-гидроксиарил)галогеналканами // *Журнал органической химии*. 2001. Т. 37. N 9. С. 1317–1320.

REFERENCES

1. Lukevits É. Pyridine derivatives in the drug arsenal (150 years of pyridine chemistry). *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 1995;31:639-650. DOI: 10.1007/BF01169065.

2. 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. DOI: 10.1016/j.ejmech.2009.11.039.

3. Dyadyuchenko L.V., Dotsenko V.V. Synthesis of isoxazolo[5,4-b]pyridine derivatives (microreview). *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2021;57:627-629. DOI: 10.1007/s10593-021-02959-7.

4. Leontyev T.N., Lebedeva A.Yu., Fedorova O.A. Synthesis and study of the spectral properties of styryl dyes based on benzothiazole and pyridine. *Uspekhi v khimii i khimicheskoi tekhnologii*. 2015;29(7):114-116. (In Russian). EDN: ULVPPR.

5. 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;56(24):15110-15118. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.7b02439.

6. Shi S., Lei P., Szostak M. Pd-PEPPSI: a general Pd-NHC precatalyst for Suzuki–Miyaura cross-coupling of esters

by C–O cleavage. *Organometallics*. 2017;36(19):3784-3789. DOI: 10.1021/acs.organomet.7b00565.

7. Kokina T.E., Glinskaya L.A., Piryazev D.A., Eremina Y.A., Naumov D.Y., Larionov S.V., et al. Synthesis and structures of Cu,II complexes with a 2,2'-bipyridine derivative bearing a (+)-3-carene moiety. *Russian Chemical Bulletin*. 2018;67:1251-1260. DOI: 10.1007/s11172-018-2209-1.

8. Lebedeva O.V., Chesnokova A.N., Badlueva T.V., Sipkina E.I., Rzhchitskii A.E., Pozhidaev Yu.N. Hybrid ion-exchange membranes based on heteroaromatic sulfonic acid derivatives. *Petroleum Chemistry*. 2015;55:333-338. DOI: 10.1134/S0965544115040040.

9. Lebedeva O.V., Sipkina E.I., Pozhidaev Yu.N. Adsorption of platinum(IV) by a composite based on silicon dioxide and copolymer of 4-vinylpyridine and 2-hydroxyethylmethacrylate. *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*. 2017;53:80-84. DOI: 10.1134/S2070205117010130.

10. Sipkina E.I., Lebedeva O.V., Pozhidaev Y.N., Oborina E.N. Adsorption of platinum(IV) onto composites based on silicon dioxide and vinyl acetate/1-vinylimidazole and vinyl acetate/4-vinylpyridine copolymers. *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*. 2017;53:657-662. DOI: 10.1134/S2070205117040207.

11. Sosnovskaya N.G., Istomina N.V., Bogdanova I.N., Rozenzweig I.B., Tyurin M.D., Korchevin N.A. Influence of process conditions and organic additives structure on the formation and properties of coatings during electrochemical nickel plating. *Fizikokhimiya poverkhnosti i zashchita materialov*. 2024;60(6):629-653. (In Russian). DOI: 10.31857/S0044185624060064.

12. Szeptycka B. Effects of organic compounds on the electrocrystallization of nickel. *Elektrokhimiya*. 2001;37(7):805-810. (In Russian). EDN: IYPVHM.

13. 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 isothiuronic salts. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021;11(2):326-332. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-2-326-332. EDN: VBVSIX.

14. Polynsky I.V., Knyazeva L.G. Study of the possibility of using isothiuronium salts as corrosion inhibitors. *Uspekhi v khimii i khimicheskoi tekhnologii*. 2021;35(5):89-91. (In Russian). EDN: WPWBCC.

15. Ivanova A.O., Sosnovskaya N.G., Nikonova V.S., Levanova E.P., Popov S.I. The use of isothiuronic salts as brightening additives in the technology of bright nickel electrochemical plating. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2017;7(4):136-141. (In Russian). DOI: 10.21285/227-2925-2017-7-4-136-141. EDN: YMQFTF.

16. 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. *Electroplating & Surface Treatment*. 2019;27(4):4-11. (In Russian). DOI: 10.47188/0869-5326_2019_27_4_4. EDN: MHXVSI.

17. Grabelnykh V.A., Bogdanova I.N., Sosnovskaya N.G., Istomina N.V., Russavskaya N.V., Kondrashov E.V., et al. Characteristics of 2-chloropyridine and thiourea condensation. Structure of the as-formed products and their effect on coating properties during electrochemical nickel plating. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):498-505. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2022-12-4-498-505. EDN: NSNWDX.

18. Levanova E.P., Grabelnykh V.A., Vakhrina V.S., Russavskaya N.V., Albanov A.I., Korchevin N.A., et al. Synthesis of new 2-(alkenylsulfanyl)pyrimidine derivatives. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2014;50:429-433. DOI: 10.1134/S1070428014030221.

19. Cossar B.C., Fournier J.O., Fields D.L., Reynolds D.D. Preparation of thiols. *The Journal of Organic Chemistry*. 1962;27(1):93-95. DOI: 10.1021/jo01048a024.

20. Kandalintseva N.V., Prosenko A.E., Dobchenko O.I., Stoyanov E.S. Synthesis of S-alkylisothiuronium halides by reaction of thiourea with ω -(4-hydroxyaryl)alkyl halides. *Zhurnal organicheskoi khimii*. 2001;37(9):1317-1320. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Грабельных Валентина Александровна,

к.х.н., научный сотрудник,
Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
✉ venk@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1067-7755>

Сосновская Нина Геннадьевна,

к.т.н., доцент, заведующий кафедрой,
Ангарский государственный
технический университет,
665825, г. Ангарск, ул. Чайковского, 60,
Российская Федерация,
sosnina148@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8815-9280>

Истомина Алена Андреевна,

к.т.н., доцент,
Ангарский государственный
технический университет,
665825, г. Ангарск, ул. Чайковского, 60,
Российская Федерация,
alenaist@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3107-6975>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Valentina A. Grabelnykh,

Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
✉ venk@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1067-7755>

Nina G. Sosnovskaya,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Head of the Department,
Angarsk State Technical University,
60, Tchaikovsky St., Angarsk, 665825,
Russian Federation,
sosnina148@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8815-9280>

Alena A. Istomina,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Angarsk State Technical University,
60, Tchaikovsky St., Angarsk, 665825,
Russian Federation,
alenaist@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3107-6975>

Албанов Александр Иванович,
к.х.н., старший научный сотрудник,
Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
albanov@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7267-5416>

Корчевин Николай Алексеевич,
д.х.н.,
ведущий научный сотрудник,
Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
профессор,
Ангарский государственный
технический университет,
665825, г. Ангарск, ул. Чайковского, 60,
Российская Федерация,
venk@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5729-9050>

Истомина Наталия Владимировна,
д.х.н., профессор, проректор по учебной работе,
Ангарский государственный
технический университет,
665825, г. Ангарск, ул. Чайковского, 60,
Российская Федерация,
prorector@angtu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5266-1527>

Розенцвейг Игорь Борисович,
д.х.н., доцент,
заведующий лабораторией,
Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
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>

Alexandr I. Albanov,
Cand. Sci. (Chemistry), Senior Researcher,
A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
albanov@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7267-5416>

Nikolai A. Korchevin,
Dr. Sci. (Chemistry),
Leading Researcher,
A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
Professor,
Angarsk State Technical University,
60, Tchaikovsky St., Angarsk, 665825,
Russian Federation,
venk@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5729-9050>

Nataliya V. Istomina,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Vice-Rector for Academic Affairs,
Angarsk State Technical University,
60, Tchaikovsky St., Angarsk, 665825,
Russian Federation,
prorector@angtu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5266-1527>

Igor B. Rozentsveig,
Dr. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Head of the Laboratory,
A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry
of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
Professor,
Irkutsk State University,
1, Karl Marks St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
i_roz@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7817-7816>

Вклад авторов

В.А. Грабельных – разработка концепции, разработка методологии, проведение исследования.
Н.Г. Сосновская – разработка концепции, разработка методологии.
А.А. Истомина – проведение исследования.
А.И. Албанов – формальный анализ.
Н.А. Корчевин – научное руководство, написание черновика рукописи.
Н.В. Истомина – курирование данных, валидация результатов.
И.Б. Розенцвейг – административное руководство исследовательским проектом, визуализация.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 16.04.2025.
Одобрена после рецензирования 04.06.2025.
Принята к публикации 09.09.2025.

Contribution of the authors

Valentina A. Grabelnykh – conceptualization, methodology, investigation.
Nina G. Sosnovskaya – conceptualization, methodology.
Alena A. Istomina – investigation.
Aleksandr I. Albanov – formal analysis.
Nikolai A. Korchevin – supervision, writing – original draft.
Nataliya V. Istomina – data curation, validation.
Igor B. Rozentsveig – project administration, visualization.

Conflict of interest

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 16.04.2025.
Approved after reviewing 04.06.2025.
Accepted for publication 09.09.2025.



Теоретическое исследование карбокатионных производных винилглицидилового эфира этиленгликоля полуэмпирическим методом PM3

И.А. Фарион

Байкальский институт природопользования СО РАН, Улан-Удэ, Российская Федерация

Аннотация. Цель исследования заключалась в оценке влияния структуры карбокатионов (в том числе сольватированных) – производных винилглицидилового эфира этиленгликоля («винилокса») – на их энтальпию образования, геометрию и энергии граничных орбиталей полуэмпирическим квантово-химическим методом PM3. В ходе работы проведены расчеты энтальпий образования «винилокса», а также энергий граничных, то есть высших занятых и низших вакантных молекулярных орбиталей карбокатионов, образующихся при гетеролитическом раскрытии винилоксидных и эпоксидных групп. Расчеты проводились с полной оптимизацией геометрии. Рассчитаны характеристики 9 модельных структур-объектов исследования, которые потенциально могут участвовать в процессах роста макромолекулярных цепей по катионному механизму. Установлено влияние на энтальпии образования и энергии граничных орбиталей внутри- и межмолекулярных аномерных («через пространство») эффектов взаимодействия простых эфирных и эпоксидных кислородов с карбокатионными центрами. Пространственная геометрия структур с внутримолекулярными аномерными взаимодействиями во всех случаях является «изогнутой». Геометрия «эпоксидного» карбокатиона – «линейной» из-за отсутствия такого типа взаимодействий. При этом обнаружено, что эти взаимодействия заметно уменьшают как энтальпии образования карбокатионов, так и энергии граничных высших занятых молекулярных орбиталей. Вполне возможно, что подобные аномерные взаимодействия являются донорно-акцепторными, в которых задействованы «неподеленные пары электронов» кислородов и вакантные *p*-орбитали карбокатионных центров. Предполагается, что данные взаимодействия также будут иметь место в среде апротонных слабополярных растворителей-хлоруглеводородов, что доказано на примере хлороформа.

Ключевые слова: винилглицидиловый эфир этиленгликоля, карбокатионы, квантово-химические расчеты, оптимизация геометрии, граничные молекулярные орбитали, энтальпия образования

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках гранта, соглашение № 075-15-2024-633 (Сеченовский университет).

Для цитирования: Фарион И.А. Теоретическое исследование карбокатионных производных винилглицидилового эфира этиленгликоля полуэмпирическим методом PM3 // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 328–336. DOI: 10.21285/achb.984. EDN: KAUNFK.

Theoretical study of carbocation derivatives of ethylene glycol vinyl glycidyl ether via the semiempirical Parametric Method 3

Ivan A. Farion

Baikal Institute of Nature Management, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
Ulan-Ude, Russian Federation

Abstract. The study aims to assess how the structure of carbocations, including solvated carbocations – derivatives of ethylene glycol vinyl glycidyl ether (Vinylox) – affects their enthalpy of formation, geometry, and frontier orbital energies via a semiempirical quantum chemical method (Parametric Method 3). In this work, the enthalpy of Vinylox formation was calculated, as well as the energies of frontier (highest occupied and lowest unoccupied) molecular orbitals of carbocations formed during the heterolytic cleavage of vinyl oxide and epoxy groups. The calculations were performed with full geometry optimization. The characteristics of nine model structures (the subject matter of the study) that could potentially participate in cationic macromolecular chain growth processes were determined. It was found how the intramolecular and intermolecular anomeric (“through space”) effects, involving the interaction of simple ether and epoxy oxygens with carbocation centers, affect the enthalpy of formation and frontier orbital energies. In all cases, the spatial geometry of structures with intramolecular anomeric interactions is bent. The geometry of the epoxy carbocation is linear due to the absence of such interactions. These interactions were found to significantly reduce both the enthalpy of carbocation formation and the energy of the highest occupied molecular orbitals. It is possible that such anomeric interactions are of donor-acceptor type, involving the unshared electron pairs of oxygen and the vacant *p* orbitals of carbocation centers. It is assumed that these interactions also occur in weakly polar aprotic solvents (chlorohydrocarbons), as proven by the example of chloroform.

Keywords: ethylene glycol vinyl glycidyl ether, carbocations, quantum chemical calculations, geometry optimization, frontier molecular orbitals, enthalpy of formation

Funding. The Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation supported this work (grant agreement no. 075-15-2024-633 (Sechenov University)).

For citation: Farion I.A. Theoretical study of carbocation derivatives of ethylene glycol vinyl glycidyl ether via the semiempirical Parametric Method 3. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):328-336. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.984. EDN: KAUFK.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что винилоксидные эфиры, а также изобутилен, изопрен и винилгетероциклы гомополимеризуются по катионно-цепному механизму при иницировании сильными кислотами Льюиса и/или Бренстеда [1–10], также в присутствии легко диссоциирующих спиртов (бензилового, аллилового) либо соответствующих галогенидов [9], галогенангидридов кислот [9] и следов воды в качестве промоторов [9, 10]. Кроме того, процессы катионной полимеризации могут быть иницированы термолabileными комплексами Li^+ с простыми алкильными полиэфирами [11].

Что касается конкретно винилоксидных мономеров, включая «винилокс», то их гомополимеризация по радикально-цепному механизму либо вообще не проходит, либо проходит достаточно трудно, образуящиеся гомополимеры имеют низкую молекулярную массу [12]. Причина всего этого – сильная стабилизация радикального центра роста цепи за счет его сопряжения с неподеленной парой электронов соседнего «винилоксидного» кислорода. Но они могут с успехом сополимеризоваться по радикальному

механизму, например с винильными (винилхлоридом [13], трифторхлорэтиленом [14], винилгетероциклами [15]), а также с π -электроноакцепторными мономерами (малеимидами [16–19]), причем в обзоре [19] авторами изложена полезная информация по чередующейся сополимеризации виниловых мономеров с малеимидами. Винилоксидные мономеры также могут радикально гомополимеризоваться при координации «винилоксидного» кислорода, сопряженного с кратной связью, с катионом Li^+ [12]. В последних двух случаях должно происходить уменьшение электронной плотности на винилоксидной группе за счет образования донорно-акцепторных π - π комплексов с переносом заряда с малеимидами [19, 20] или координации вышеупомянутой неподеленной пары с Li^+ [12]. Таким образом, получение гомополимеров из винилоксидных мономеров посредством радикальной гомополимеризации сопряжено с большими трудностями.

Относительно катионной (со)полимеризации «винилокса» в научной литературе сведения весьма ограничены. Главной причиной скудности подобных сведений

может быть наличие у «винилокса» кроме винилоксидной также и эпоксидной функции. Последняя способна полимеризоваться по катионному механизму, в том числе с раскрытием трехчленного цикла [11, 21]. Из-за этого в условиях роста цепи по катионному механизму «винилокс» образует шитые нерастворимые полимерные продукты при иницировании, например латентными комплексными катализаторами, такими как комплексы LiBF_4 с эфирами этиленгликолей, проявляющие свою активность при нагревании до 50–70 °C [11].

Известно, что если в катионной перекрестной сополимеризации участвует смесь монофункциональных мономеров – винилоксидного (например, винилалкильного простого эфира) и оксиранового, то образуется линейный сополимер, содержащий в полимерной цепи фрагменты обоих мономеров [21]. При этом в работе [21] авторы показали, что синтез подобного типа сополимеров возможен только при полном раскрытии оксиранового цикла с образованием соответствующих карбокатионов. Таким образом, в данном исследовании показана основная роль именно карбокатионных (а не оксониевых) активных частиц в вышеупомянутых процессах катионной перекрестной сополимеризации. В то же время стабильность карбокатионов, образующихся при раскрытии оксирановых циклов, зависела от наличия электронодонорных групп, находящихся в сверхсопряжении с карбокатионным центром.

Что касается теоретических исследований карбокатионов, образующихся при гетеролитическом раскрытии винилоксидной или эпоксидной групп методами квантовой химии, то авторы работы [22] изучили структуры, содержащие данные группы отдельно в каждом соединении, используя полуэмпирический AM1. Подобные теоретические исследования структур, содержащих одновременно эпоксидную и винилоксидную реакционноспособные группы в своем составе, ранее либо не проводились, либо проводились в крайне малых количествах. Также в этой работе отсутствуют сведения о влиянии структуры карбокатионов на их энтальпию образования, геометрию и энергии граничных орбиталей.

Учитывая вышеизложенное, а также наличие у «винилокса» одновременно двух реакционноспособных групп, винилоксидной и эпоксидной, способных при гетеролитическом раскрытии образовывать карбокатионы, а также глицидильного эфирного кислорода было бы весьма интересно провести квантово-химические исследования карбокатионных структур на его основе.

В связи с вышесказанным основная цель проведенного исследования заключалась в оценке влияния структуры карбокатионов (в том числе сольватированных) – производных «винилокса» – на их энтальпию образования, геометрию и энергии граничных орбиталей полуэмпирическим квантово-химическим методом PM3.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В ходе работы были рассчитаны характеристики 9 модельных структур-объектов исследования, то есть «винилокса» и его карбокатионных производных, с применением программного продукта HyperChem 7.1 «пробная» (trial) версия. Расчеты проводились с полной оптимизацией геометрии. Для расчета «замороженной» конформации (фиксированной геометрии) применялась опция Single Point.

Результаты квантово-химических расчетов сведены в таблице.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Распределение зарядов на винилоксидном фрагменте (рис. 1) говорит о том, что наибольший отрицательный заряд (-0,240) связи C=C сосредоточен на группе CH_2 . На данную группу, как правило, и должна будет осуществляться атака электрофильных карбокатионов в процессе катионной цепной полимеризации. Но необходимо учитывать, что в напряженном эпоксидном цикле на атоме кислорода тоже имеется сравнимый по величине отрицательный заряд (-0,263) и на этот кислород также возможна атака электрофилов, которая может приводить к катионной полимеризации с раскрытием этого напряженного цикла.

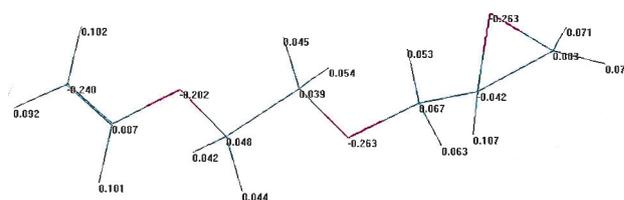


Рис. 1. Геометрия и распределение зарядов на атомах структуры I

Fig. 1. Geometry and charge distribution on atoms of structure I

Вместе с тем энергия занятой орбитали с участием винилоксидной группы (-9,514 эВ) лежит выше, чем у занятой орбитали с участием эпоксигруппы (-11,548 эВ). Из этого следует, что эпоксидный кислород является более «жестким» основанием в соответствии с принципом жестких и мягких кислот и оснований Пирсона и будет в меньшей степени реагировать с «мягкими» карбокатионами. Все это должно предопределять немного большую вероятность катионной гомополимеризации по кратной связи, чем по эпоксигруппе, но это также сильно зависит от структуры сомономеров и реакционной среды [21].

Модельные карбокатионы, которые могли бы образовываться за счет гетеролитического раскрытия связи C=C или эпоксидного цикла при их реакции с электрофилами (протонами или алкильными катионами), представлены как «винилоксид-карбокатион» (пример – структуры IIa и IIb) и «эпоксид-карбокатион» (пример – структура III).

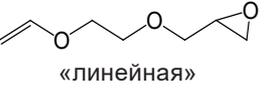
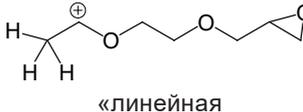
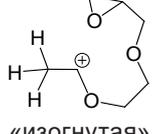
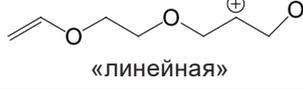
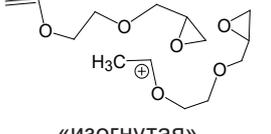
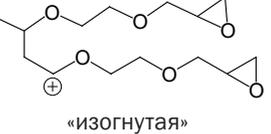
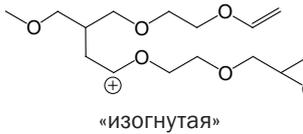
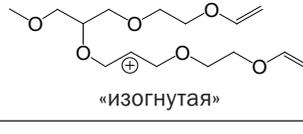
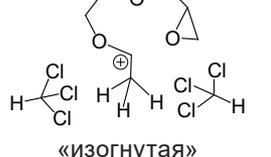
Полная оптимизация геометрии винилоксид-карбокатиона – продукта взаимодействия протона с кратной связью «винилокса» – показала, что наиболее выгодной с энергетической точки зрения является «изогнутая» структура IIb с энтальпией образования +91,360 ккал/моль (рис. 2).

Для подтверждения факта «энергетической выгоды» «изогнутой» конформации была рассчитана также «линейная» конформация (соединение IIa), без оптимизации геометрии с использованием опции Single Point. Энтальпия образования этой структуры составляет +121,217 ккал/моль, что на 29,857 ккал/моль выше, чем у более «выгодной энергетически» «изогнутой».

Вполне возможно, что «энергетическая выгода» «изогнутой» конформации есть результат аномального

Результаты квантово-химических расчетов модельных соединений

Results of quantum chemical calculations of model compounds

Номер соединения	Рассчитываемая модель	Энтальпия образования, ккал/моль	Энергия ВЗМО, эВ	Энергия ВЗМО-1, эВ	Энергия ВЗМО-2, эВ	Энергия ВЗМО-3, эВ	Энергия НВМО, эВ
I	 «линейная»	-65,870	-9,514 винилокси ⁽¹⁾	-	-11,548 эпокси	-	-
IIa	 «линейная замороженная» ⁽³⁾	+121,217	-13,609 эпокси	-	-	-	-7,263 карбокатион ⁽²⁾
IIb	 «изогнутая»	+91,360	-15,001 эпокси	-	-	-	-6,095 карбокатион
III	 «линейная»	+118,115	-11,810 винилокси	-	-	-	-7,848 карбокатион
IV	 «изогнутая»	+23,604	-11,547 винилокси	-13,971 первая эпокси	-	-14,262 вторая эпокси	-5,925 карбокатион
V	 «изогнутая»	-3,436	-	-	-	-14,449 обе эпокси	-5,500 карбокатион
VI	 «изогнутая»	-14,000	-12,268 винилокси	-13,530 эпокси	-	-	-5,548 карбокатион
VII	 «изогнутая»	+5,874	-12,608 первая винилокси	-12,785 вторая винилокси	-	-	-6,940 карбокатион
VIII	 «изогнутая»	+43,172	-13,291 CHCl ₃ ³	-	-14,823 эпокси	-	-5,778 карбокатион

Примечание. ВЗМО – высшая занятая молекулярная орбиталь; НВМО – низшая вакантная молекулярная орбиталь. ⁽¹⁾ – указаны реакционноспособные группы в составе граничных молекулярных орбиталей; ⁽²⁾ – НВМО локализованы не только на самом «карбокатионном» sp²-гибризованном углероде, но также и на соседних с ним кислороде и/или связях С–Н метильной или метиленовых групп, вероятно, из-за эффектов сверхсопряжения вакантной р-орбитали sp²-углерода с «неподеленной парой электронов» кислорода и/или этими связями С–Н; ⁽³⁾ – первоначальное построение геометрии структуры опцией Add H & Model Build, затем расчеты с использованием опции Single Point методом PM3.

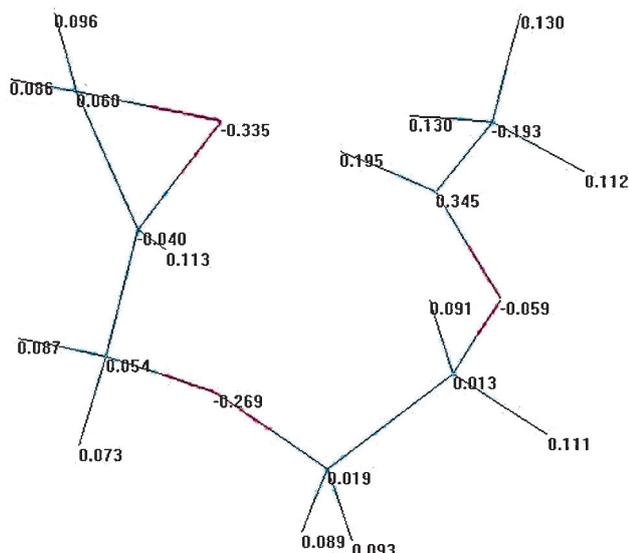


Рис. 2. Геометрия и распределение зарядов на атомах структуры IIb

Fig. 2. Geometry and charge distribution on atoms of structure IIb

взаимодействия неподеленных электронных пар эфирного и эпоксидного кислорода с карбокатионным центром, но без образования оксониевых макроциклов, что подтверждается наглядно частичными отрицательными зарядами на кислородах.

Вместе с тем факт предположительного образования циклических (1,3-диоксепановых) оксониевых фрагментов за счет пространственного внутримолекулярного взаимодействия «карбокатионного» центра и эфирного кислорода был показан в работе [21]. Тем не менее можно предположить, что образование именно макроциклов с оксониевым положительно заряженным кислородом в работе [21] также маловероятно. В результате можно сделать заключение, что в исследовании [21], скорее всего, имеет место карбокатионный центр растущей макромолекулы с «изогнутой» (промежуточной между линейной и циклической) конформацией, подобной IIb.

Подобного эффекта аномерной стабилизации у эпоксид-карбокатиона (структура III) выявлено не было, так как в процессе оптимизации не наблюдалось образования сильно «изогнутой» структуры. Отсутствие аномерной стабилизации, вероятно, и было причиной высокой, сравнимой со структурой IIa, энтальпии образования структуры III (+118,115 ккал/моль).

Как указано выше, наличие двух нуклеофильных реакционных центров, двойной связи и эпоксидного цикла в структуре I предопределяет их совместное участие в катионной полимеризации с образованием сшитых полимеров [11].

В данном процессе теоретически возможно сочетание следующих взаимодействий при катионной полимеризации: винилоксид-карбокатион – кислород эпоксигруппы, винилоксид-карбокатион – двойная связь, эпоксид-карбокатион – двойная связь, эпоксид-карбокатион – кислород эпоксигруппы. При этом авторы указанной выше публикации [21] сделали заключение, что «легкость» образования эпоксид-карбокатиона определяется его стабильностью за счет сверхсо-

пряжения с кратной связью C=C или со связями C–N алкильных заместителей, а также взаимодействием с неподеленными парами электронов атомов кислорода в составе растворителей (этилацетат, диоксан и др.). В случае вторичного эпоксид-карбокатиона (структура III) мы имеем четыре связи C–N двух соседних метиленовых групп, которые могут в какой-то степени стабилизировать этот карбокатион за счет сверхсопряжения. В связи с этим, даже несмотря на отсутствие эффективной стабилизации этого эпоксид-карбокатиона, предполагается, что он также может образовываться в среде подходящего растворителя.

Были проведены квантово-химические исследования вышеописанных взаимодействий карбокатионов с двойной связью и эпоксидным кислородом «винилокса» методом РМЗ. Стартовая геометрия была подобрана так, чтобы реагирующие центры располагались как можно ближе друг к другу, а остальные фрагменты реагирующих частиц, наоборот, дальше.

При моделировании элементарного акта катионной полимеризации между винилоксид-карбокатионом (структура IIa) с кислородом эпоксигруппы (структура I) посредством оптимизации геометрии взаимодействия реакционных центров не происходило, как и в случае с другими структурами, содержащими подобные центры [21]. Реакционные центры удалялись друг от друга, конечная оптимальная геометрия структуры IV показана на рис. 3. Можно сделать заключение, что молекула «винилокса» всего лишь сольватирует карбокатион без какого-либо ковалентного взаимодействия с перемещением карбокатионного центра. Здесь также происходило изгибание карбокатионной структуры, а во взаимодействии с карбокатионным центром участвуют как эпоксидный и эфирный кислорода самой карбокатионной структуры, так и аналогичные атомы сольватирующего «винилокса». Подобная сольватация уменьшает энтальпию образования с +91,360 до +23,604 ккал/моль.

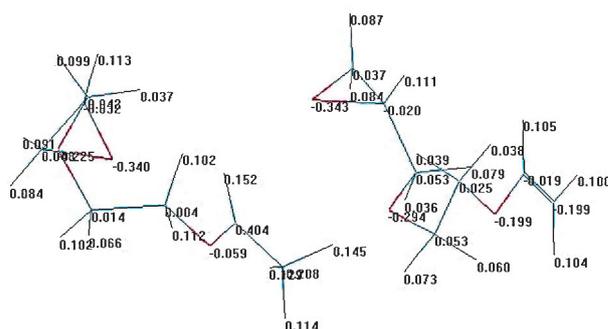


Рис. 3. Геометрия и распределение зарядов на атомах структуры IV

Fig. 3. Geometry and charge distribution on atoms of structure IV

Объяснить отсутствие взаимодействия винилоксид-карбокатиона (структура IIa) с эпоксидным кислородом (структура I) можно с точки зрения энергий граничных орбиталей и принципа жестких и мягких кислот и оснований Пирсона. Так, с винилоксид-карбокатионом (энергия НВМО ~ -6 эВ) выгоднее взаимо-

действие «мягкой» подвижной винилоксидной связи $C=C$ (энергия ВЗМО $\sim -9,5...-12,8$ эВ), чем «жесткого» эпоксидного кислорода в составе этих карбокатионов (энергия ВЗМО $\sim -13,5...-15$ эВ). При сравнении энергий ВЗМО и ВЗМО-2 «винилокса» (структура I) со всеми карбокатионными структурами, приведенными в таблице, можно сделать вывод о том, что во всех этих заряженных частицах энергии занятых орбиталей с участием связи $C=C$ или кислорода эпоксидной группы снижены, но в случае эпоксидов в большей степени. Поэтому при сближении эпоксидного кислорода «винилокса» с винилоксид-карбокатионом энергия граничной занятой орбитали снижается настолько, что взаимодействие становится неэффективным. В то же время самая низкая энергия НВМО с участием эпоксид-карбокатионов (структуры III и VII) делает такое взаимодействие более эффективным, если данные карбокатионы не будут сильно сольватированы кислородсодержащими растворителями [21].

При моделировании элементарных актов катионной полимеризации между винилоксид-карбокатионом (структура IIa) и двойной связью (структура I), эпоксид-карбокатионом (структура III) и двойной связью (структура I), а также эпоксид-карбокатионом (структура III) и кислородом эпоксигруппы (структура I) происходило, в отличие от приведенного выше примера, взаимодействие реакционных центров. Реакционные центры приближались друг к другу, образуя одинарную связь. Конечная оптимальная геометрия структур V, VI и VII с распределением зарядов показана на рис. 4, 5 и 6 соответственно. При этом углероды прореагировавших центров перешли из состояния sp_2 - (плоскость) в состояние sp_3 - (пирамида) гибридизации. Расстояние между этими атомами углерода для структур V, VI и VII составляет 1,54, 1,53 и 1,44 Å, а валентный угол $C-C-H$ – 110,68, 109,24 и 110,00° соответственно. Наибольший положительный («карбокатионный») заряд переместился на вторичный углерод прореагировавших связей $C=C$ для структур V и VI или эпоксигруппы для структуры VII. В последнем случае произошло также сильное «удлинение» связи кислород-углерод в эпоксидном цикле, то есть фактически ее разрыв с образованием именно вторичного карбокатионного центра на этом углероде.

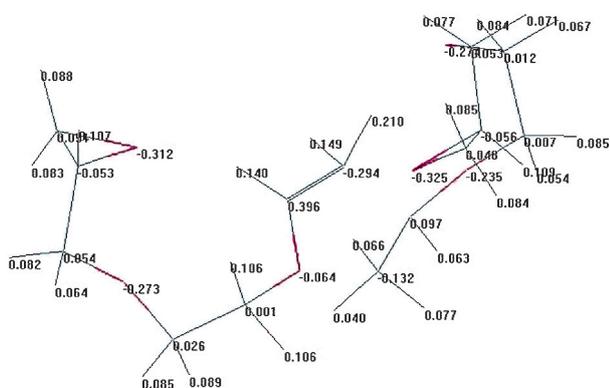


Рис. 4. Геометрия и распределение зарядов на атомах в структуре V

Fig. 4. Geometry and charge distribution on atoms of structure V

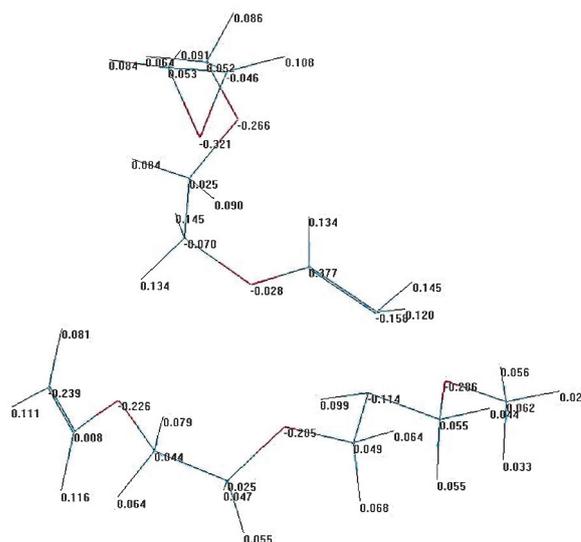


Рис. 5. Геометрия и распределение зарядов на атомах в структуре VI

Fig. 5. Geometry and charge distribution on atoms of structure VI

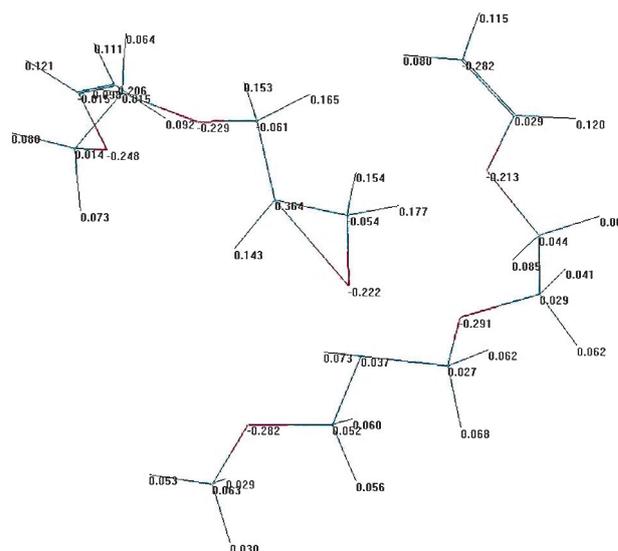


Рис. 6. Геометрия и распределение зарядов на атомах в структуре VII

Fig. 6. Geometry and charge distribution on atoms of structure VII

Помимо всего указанного выше после оптимизации также произошло «изгибание» фрагментов реагирующих структур со сближением эпоксидных и эфирного атомов кислорода с карбокатионным центром. Изменение геометрии, вполне возможно, есть следствие взаимодействия «неподделанных пар электронов» данных атомов с этим центром «через пространство» так называемой внутримолекулярной аномерной стабилизирующей сольватации аналогично винилоксид-карбокатиону (структура IIb). Эффект стабилизации за счет данного аномерного взаимодействия, согласно энтальпии образования, для структур V (-3,436 ккал/моль), VI (-14 ккал/моль) и VII (+5,874 ккал/моль) проявляется намного больше, чем для структуры IIb (+91,360 ккал/моль).

Также необходимо дополнительно отметить, что при оптимизации геометрии в структурах **VI** и **VII** не происходило взаимодействие терминальных винилоксидных двойных связей с карбокатионными центрами, которое могло бы привести к образованию макроциклических карбокатионов, аналогичных приведенным авторами в источнике [22]. По-видимому, процесс образования подобных циклических карбокатионных производных, описанных в работе [22], должен быть крайне маловероятен, особенно на конечных стадиях роста макромолекул, где терминальные катионный центр и двойная связь отделены друг от друга в достаточной степени.

Подобного рода аномальная стабилизация карбокатионов (структуры **IIb** и **V-VII**) как центров роста макромолекул кроме гипотетического «вакуума» вполне возможна и в слабополярной среде хлоруглеводородов, например в хлороформе (структура **VIII**), что также приводит к «изгибанию». В отличие от несольватированной «изогнутой» структуры **IIb** сольватация хлороформом (структура **VIII**) приводит к снижению энтальпии образования с +91,360 до +43,172 ккал/моль, то есть больше чем в 2 раза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Распределение зарядов в оптимизированной геометрии «винилокса», а также энергии его граничных высшей занятой и низшей вакантной молекулярных орбиталей указывает, что наиболее вероятна атака «мягких» электрофильных карбокатионов при катионной полимеризации на двойную винилоксидную связь, при этом подобный процесс не исключается на «жесткий» кислород эпоксигруппы.

Установлено, что наиболее «энергетически» выгодная оптимизированная геометрия всех карбокатионных структур (производных «винилокса») является «изо-

гнутой», за исключением структуры **III**. Вполне возможно, что «энергетическая» выгодность «изогнутых» конформаций есть результат аномальных взаимодействий неподеленных электронных пар эфирного и эпоксидного атомов кислорода с карбокатионными центрами, но без образования оксониевых макроциклов. Подобные конформации, скорее всего, будут более эффективными в «вакууме» или в среде слабополярных растворителей.

При моделировании элементарного акта катионной полимеризации между винилоксид-карбокатионом (структура **IIa**) и кислородом эпоксигруппы (структура **I**) посредством оптимизации геометрии реакции между ними не происходило, что может быть связано с неэффективным взаимодействием граничных орбиталей, включающих данные карбокатион и атом кислорода, из-за существенной разности энергий этих орбиталей. Наоборот, подобные моделирования между винилоксид-карбокатионом (структура **IIa**) и двойной связью (структура **I**), эпоксид-карбокатионом (структура **III**) и двойной связью (структура **I**), а также эпоксид-карбокатионом (структура **III**) и кислородом эпоксигруппы (структура **I**) показали эффективные взаимодействия реакционных центров как результат аналогичных взаимодействий граничных молекулярных орбиталей. Терминальный углерод двойной связи или эпоксидный кислород реагировали с карбокатионными центрами, образуя одинарную связь с перемещением данных центров.

Вместе с тем было показано, что процесс образования циклических карбокатионных производных, которые могли бы образоваться за счет взаимодействия терминальных двойных связей и катионного центра роста макромолекул [22], должен быть крайне маловероятен, особенно на конечных стадиях подобного роста, где эти взаимодействующие группы отделены друг от друга в достаточной степени.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Karthikeyan S., Gupta V.K. Highly reactive polyisobutylene through cationic polymerization of isobutylene // Journal of Polymer Research. 2023. Vol. 30. P. 337. DOI: 10.1007/s10965-023-03706-6.
2. Deng S., Tian H., Sun D., Liu S., Zhao Q. Method for initiating cationic polymerization of isobutylene by $AlCl_3$ // Journal of Polymer Research. 2020. Vol. 27. P. 55. DOI: 10.1007/s10965-020-2024-x.
3. Bentes J., Mangia L.H.R., Vasconcelos M.K., Tatania M., Fidalgo J., Campos D., et al. Cationic polymerization of isobutylene by $AlCl_3$ in *n*-hexane and toluene at mild temperatures // Journal of Applied Polymer Science. 2024. Vol. 141, no. 11. P. e55076. DOI: 10.1002/app.55076.
4. Singha S., Pan S., Tallury S.S., Nguyen G., Tripathy R., De P. Recent developments on cationic polymerization of vinyl ethers // ACS polymers Au. 2024. Vol. 4, no. 3. P. 189–207. DOI: 10.1021/acspolymersau.3c00055.
5. He Y., Lu Y. Living cationic polymerization of isobutylene in seconds based on microflow system // European Polymer Journal. 2022. Vol. 174. P. 111335. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2022.111335.
6. Rozentsvet V.A., Sablina N.A., Ulyanova D.M., Tolstoy P.M., Novakov I.A. Polymerization of isoprene using cationic catalytic systems based on triethylaluminum // Doklady Physical Chemistry. 2021. Vol. 499. P. 73–76. DOI: 10.1134/S0012501621080017.
7. Chen L., Wang Z., Fang E., Fan Z., Song S. Cationic polymerization of vinyl ethers using trifluoromethyl sulfonate/solvent/ligand to access well-controlled poly(vinyl ether)s // Chemical Science. 2025. Vol. 16, no. 3. P. 1250–1264. DOI: 10.1039/d4sc06181k.
8. Sorensen C.C., Leibfarth F.A. Stereoselective helix-sense-selective cationic polymerization of *N*-vinylcarbazole using chiral Lewis acid catalysis // Journal of the American Chemical Society. 2022. Vol. 144, no. 19. P. 8487–8492. DOI: 10.1021/jacs.2c02738.
9. Сангалов Ю.А., Минскер К.С. Полимеры и сополимеры изобутилена: Фундаментальные работы и прикладные аспекты. Уфа: Гилем, 2001. 384 с.
10. Софронова О.В., Маркина Е.А., Челнокова С.М., Сахабутдинов А.Г. Вода – классический промотирующий агент каталитического комплекса на основе хлористого алюминия // Вестник Казанского технологического университета. 2011. N 15. С. 71–75. EDN: OFSLUV.
11. Трофимов Б.А., Морозова Л.В., Татарина И.В., Хилько М.Я., Иванова Н.И., Михалева А.И. [и др.]. Новые каталитические системы для полимеризации виниловых эфиров // Высокомолекулярные соединения. Серия Б. 2002. Т. 44. N 11. С. 2048–2052. EDN: HISTAQ.
12. Duan J., Gong Y., Chen D., Ma Y., Song C., Yang W. Radical homopolymerization of vinyl ethers activated by Li^+ - π complexation in the presence of CH_3OLi and LiI //

Polymer Chemistry. 2022. Vol. 13, no. 8. P. 1098–1106. DOI: 10.1039/D1PY01619A.

13. Раскулова Т.В., Волкова Л.И., Книжник А.В., Халиуллин А.К. Эффект предпоследнего звена в радикальной сополимеризации винилхлорида и непредельных глицидиловых эфиров // Высокомолекулярные Соединения. Серия А. 2000. Т. 42. N 5. С. 744–750.

14. Alaaeddine A., Couture G., Ameduri B. An efficient method to synthesize vinyl ethers (VEs) that bear various halogenated or functional groups and their radical copolymerization with chlorotrifluoroethylene (CTFE) to yield functional poly(VE-*alt*-CTFE) alternated copolymers // Polymer Chemistry. 2013. Vol. 4, no. 16. P. 4335–4347. DOI: 10.1039/C3PY00443K.

15. Татаринова И.В., Морозова Л.В., Маркова М.В., Васильцов А.М., Иванов А.В., Мячина Г.Ф. [и др.]. Сополимеризация *N*-винилпиррол-2-карбальдегидов со стиролом, *N*-винилпирролидоном и винилглицидиловым эфиром этиленгликоля // Высокомолекулярные соединения. Серия Б. 2011. Т. 53. N 3. С. 475–481. EDN: NEGDKN.

16. Motoyanagi J., Oguri A., Minoda M. Synthesis of well-defined alternating copolymer composed of ethylmaleimide and hydroxy-functionalized vinyl ether by RAFT polymerization and their thermoresponsive properties // Polymers. 2020. Vol. 12, no. 10. P. 2255. DOI: 10.3390/polym12102255.

17. Nishimori K., Cazares-Cortes E., Guigner J.-M., Tournilha, F., Ouchi M. Physical gelation of AB-alternating copolymers made of vinyl phenol and maleimide units:

cooperation between precisely incorporated phenol and long alkyl pendant groups // Polymer Chemistry. 2019. Vol. 10, no. 18. P. 2327–2336. DOI: 10.1039/C9PY00329K.

18. Nishimori K., Tenjimbayashi M., Naito M., Ouchi M. Alternating copolymers of vinyl catechol or vinyl phenol with alkyl maleimide for adhesive and water-repellent coating materials // ACS Applied Polymer Materials. 2020. Vol. 2, no. 11. P. 4604–4612. DOI: 10.1021/ACSAPM.0C00682.

19. Dolci E., Froidevaux V., Joly-Duhamel C., Auvergne R., Boutevin B., Caillol S. Maleimides as a building block for the synthesis of high performance polymers // Polymer Reviews. 2016. Vol. 56, no. 3. P. 512–556. DOI: 10.1080/15583724.2015.1116094.

20. Калинина Ф.Э., Могнонов Д.М., Раднаева Л.Д., Васнев В.А. Чередующиеся сополимеры винилглицидилового эфира этиленгликоля и имидов // Высокомолекулярные соединения. Серия А. 2002. Т. 44. N 3. С. 401–406. EDN: KZXXXH.

21. Kanazawa A., Aoshima S. Concurrent cationic vinyl-addition and ring-opening copolymerization of vinyl ethers and oxiranes // Polymer Journal. 2016. Vol. 48. P. 679–687. DOI: 10.1038/pj.2016.27.

22. Holder A.J., Morrill J.A., White D.A., Eick J.D., Chappelow C.C. A semiempirical quantum mechanical study of cationically catalyzed homopolymerization and copolymerization of vinyl ethers and epoxides // Journal of Molecular Structure: Theochem. 2000. Vol. 507, no. 1–3. P. 63–73. DOI: 10.1016/S0166-1280(99)00345-0.

REFERENCES

1. Karthikeyan S., Gupta V.K. Highly reactive polyisobutylene through cationic polymerization of isobutylene. *Journal of Polymer Research*. 2023;30:337. DOI: 10.1007/s10965-023-03706-6.

2. Deng S., Tian H., Sun D., Liu S., Zhao Q. Method for initiating cationic polymerization of isobutylene by AlCl₃. *Journal of Polymer Research*. 2020;27:55. DOI: 10.1007/s10965-020-2024-x.

3. Bentes J., Mangia L.H.R., Vasconcelos M.K., Tatania M., Fidalgo J., Campos D., et al. Cationic polymerization of isobutylene by AlCl₃ in *n*-hexane and toluene at mild temperatures. *Journal of Applied Polymer Science*. 2024;141(11):e55076. DOI: 10.1002/app.55076.

4. Singha S., Pan S., Tallury S.S., Nguyen G., Tripathy R., De P. Recent developments on cationic polymerization of vinyl ethers. *ACS polymers Au*. 2024;4(3):189-207. DOI: 10.1021/acspolymersau.3c00055.

5. He Y., Lu Y. Living cationic polymerization of isobutylene in seconds based on microflow system. *European Polymer Journal*. 2022;174:111335. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2022.111335.

6. Rozentsvet V.A., Sablina N.A., Ulyanova D.M., Tolstoy P.M., Novakov I.A. Polymerization of isoprene using cationic catalytic systems based on triethylaluminum. *Doklady Physical Chemistry*. 2021;499:73-76. DOI: 10.1134/S0012501621080017.

7. Chen L., Wang Z., Fang E., Fan Z., Song S. Cationic polymerization of vinyl ethers using trifluoromethyl sulfonate/solvent/ligand to access well-controlled poly(vinyl ether)s. *Chemical Science*. 2025;16(3):1250-1264. DOI: 10.1039/d4sc06181k.

8. Sorensen C.C., Leibfarth F.A. Stereoselective helix-

sense-selective cationic polymerization of *N*-vinylcarbazole using chiral Lewis acid catalysis. *Journal of the American Chemical Society*. 2022;144(19):8487-8492. DOI: 10.1021/jacs.2c02738.

9. Sangalov Yu.A., Minsker K.S. *Polymers and copolymers of isobutylene: Fundamental works and applied aspects*. Ufa: Gilem; 2001, 384 p. (In Russian).

10. Sofronova O.V., Markina E.A., Chelnokova S.M., Sakhabutdinov A.G. Water is a classic promoting agent for the catalytic complex based on aluminum chloride. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*. 2011;15:71-75. (In Russian). EDN: OFSLUV.

11. Trofimov B.A., Morozova L.V., Tatarinova I.V., Khil'ko M.Ya., Ivanova N.I., Mikhaleva A.I., et al. New catalytic systems for polymerization of vinyl ethers. *Vysokomolekul'yarnye soedineniya. Seriya B*. 2002;44(11):2048-2052. (In Russian). EDN: HISTAQ.

12. Duan J., Gong Y., Chen D., Ma Y., Songa C., Yang W. Radical homopolymerization of vinyl ethers activated by Li⁺-π complexation in the presence of CH₃OLi and Lil. *Polymer Chemistry*. 2022;13(8):1098-1106. DOI: 10.1039/D1PY01619A.

13. Raskulova T.V., Volkova L.I., Knizhnik A.V., Khaliullin A.K. Penultimate effect in the radical copolymerization of vinyl chloride and unsaturated glycidyl ethers. *Vysokomolekul'yarnye Soedineniya. Seriya A*. 2000;42(5):744-750. (In Russian).

14. Alaaeddine A., Couture G., Ameduri B. An efficient method to synthesize vinyl ethers (VEs) that bear various halogenated or functional groups and their radical copolymerization with chlorotrifluoroethylene (CTFE) to yield functional poly(VE-*alt*-CTFE) alternated copolymers.

Polymer Chemistry. 2013;4(16):4335-4347. DOI: 10.1039/C3PY00443K.

15. Tatarinova I.V., Morozova L.V., Markova M.V., Vasil'tsov A.M., Ivanov A.V., Myachina G.F., et al. Copolymerization of *N*-vinylpyrrole-2-carbaldehydes with styrene, *N*-vinylpyrrolidone, and ethylene glycol vinyl glycidyl ether. *Vysokomolekulyarnye soedineniya. Seriya B*. 2011;53(3):475-481. (In Russian). EDN: NEGDKN.

16. Motoyanagi J., Oguri A., Minoda M. Synthesis of well-defined alternating copolymer composed of ethylmaleimide and hydroxy-functionalized vinyl ether by RAFT polymerization and their thermoresponsive properties. *Polymers*. 2020;12(10):2255. DOI: 10.3390/polym12102255.

17. Nishimori K., Cazares-Cortes E., Guigner J.-M., Tournilha, F., Ouchi M. Physical gelation of AB-alternating copolymers made of vinyl phenol and maleimide units: cooperation between precisely incorporated phenol and long alkyl pendant groups. *Polymer Chemistry*. 2019;10(18):2327-2336. DOI: 10.1039/C9PY00329K.

18. Nishimori K., Tenjimbayashi M., Naito M., Ouchi M. Alternating copolymers of vinyl catechol or vinyl phenol with alkyl maleimide for adhesive and water-repellent coating

materials. *ACS Applied Polymer Materials*. 2020;2(11):4604-4612. DOI: 10.1021/ACSAPM.0C00682.

19. Dolci E., Froidevaux V., Joly-Duhamel C., Auvergne R., Boutevin B., Caillol S. Maleimides as a building block for the synthesis of high performance polymers. *Polymer Reviews*. 2016;56(3):512-556. DOI: 10.1080/15583724.2015.1116094.

20. Kalinina F.E., Mogonov D.M., Radnaeva L.D., Vasnev V.A. Alternating copolymers of ethylene glycol vinyl glycidyl ether and imides. *Vysokomolekulyarnye soedineniya. Seriya A*. 2002;44(3):401-406. (In Russian). EDN: KZXXXH.

21. Kanazawa A., Aoshima S. Concurrent cationic vinyl-addition and ring-opening copolymerization of vinyl ethers and oxiranes. *Polymer Journal*. 2016;48:679-687. DOI: 10.1038/pj.2016.27.

22. Holder A.J., Morrill J.A., White D.A., Eick J.D., Chappelow C.C. A semiempirical quantum mechanical study of cationically catalyzed homopolymerization and copolymerization of vinyl ethers and epoxides. *Journal of Molecular Structure: Theochem*. 2000;507(1-3):63-73. DOI: 10.1016/S0166-1280(99)00345-0.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

Фарион Иван Александрович,
к.х.н., старший научный сотрудник,
Байкальский институт
природопользования СО РАН,
670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6,
Российская Федерация,
fariv@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2723-6569>

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 26.12.2024.
Одобрена после рецензирования 25.02.2025.
Принята к публикации 06.08.2025.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Ivan A. Farion,
Cand. Sci. (Chemistry), Senior Researcher,
Baikal Institute of Nature Management,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
6, Sakhyanova St., Ulan-Ude, 670047,
Russian Federation,
fariv@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2723-6569>

Contribution of the author

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

Conflict of interest

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

The final manuscript has been read and approved by the author.

Information about the article

The article was submitted 26.12.2024.
Approved after reviewing 25.02.2025.
Accepted for publication 06.08.2025.

Научная статья
УДК 579.66
EDN: SPNSGI
DOI: 10.21285/achb.986



Перспективы биомониторинга при оценке качества молочного сырья казеинового типа

Ю.В. Щербакова✉, Ф.Ю. Ахмадуллина, А.С. Сироткин

Казанский национальный исследовательский технологический университет,
Казань, Российская Федерация

Аннотация. Целью исследования являлась разработка методики биотестирования для оценки качества козьего молока в производственных условиях с использованием бактерий *Escherichia coli* M-180. В качестве основных тест-реакций биомодели были выбраны стрессоустойчивость по отношению к пероксиду водорода с концентрацией в среде 10 мМ и ростовые характеристики (удельная скорость роста и прирост биомассы). Предлагаемый метод оценки качества молока предназначен для термообработанных проб молока в промышленных режимах пастеризации, которые обеспечивают гибель кишечной палочки в нативном молочном сырье. Объектами исследования являлись пробы термообработанного козьего молока со следующими режимами пастеризации: 65 °С, 30 мин; 76 °С, 5 мин; 90 °С, 20 с; 95 °С, 5 мин. На основании серии экспериментальных исследований установлены возможность и перспективность применения метода биотестирования с использованием *Escherichia coli* M-180 как тест-объекта для оценки качества молочного сырья казеинового типа в производственных условиях при его введении в среду культивирования в объемной концентрации $0,125 \times 10^{-3}$ мл/мл среды. Показана высокая чувствительность выбранного биотеста, что подтверждается как ростстимулирующими показателями (скорость роста, прирост биомассы), так и данными по стрессоустойчивости *Escherichia coli* M-180 по отношению к пероксиду водорода. Выявлено, что промышленные режимы пастеризации 76 °С, 5 мин и 90 °С, 20 с являются наиболее эффективными, обеспечивающими наиболее высокую сохранность нативных биологически активных веществ козьего молока.

Ключевые слова: козье молоко, промышленные режимы пастеризации, биотестирование, стрессоустойчивость, кишечная палочка, антиоксиданты

Для цитирования: Щербакова Ю.В., Ахмадуллина Ф.Ю., Сироткин А.С. Перспективы биомониторинга при оценке качества молочного сырья казеинового типа // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 337–346. DOI: 10.21285/achb.986. EDN: SPNSGI.

PHYSICO-CHEMICAL BIOLOGY

Original article

Prospects for biomonitoring in the quality assessment of casein dairy raw materials

Yulia V. Shcherbakova✉, Farida Yu. Akhmadullina, Alexander S. Sirotkin

Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation

Abstract. The study aims to develop a bioassay procedure for assessing goat milk quality under production conditions using *Escherichia coli* M-180 bacteria. The main test reactions of the biomodel yielded resistance to 10 mM hydrogen peroxide and growth characteristics (specific growth rate and biomass accumulation). The proposed method for assessing milk quality is intended for milk samples heat-treated under industrial pasteurization conditions, which ensure the destruction of *Escherichia coli* in native dairy raw materials. The study examined samples of goat milk heat-treated under the following pasteurization conditions: at 65 °C for 30 minutes; at 76 °C

for 5 minutes; at 90°C for 20 seconds; at 95°C for 5 minutes. A series of experimental studies established the possibility and prospects of using the bioassay procedure with *Escherichia coli* M-180 as the test object (introduced into the culture medium at a volume concentration of 0.125×10^{-3} mL/mL) to assess the quality of casein dairy raw materials under production conditions. The selected bioassay was shown to be highly sensitive, which is confirmed by the growth characteristics (growth rate and biomass accumulation), as well as data on the hydrogen peroxide resistance of *Escherichia coli* M-180. It was found that the industrial pasteurization conditions of 76°C for five minutes and 90°C for twenty seconds are the most effective, ensuring the highest preservation of native biologically active substances in goat milk.

Keywords: goat milk, industrial pasteurization conditions, bioassay, resistance, *Escherichia coli*, antioxidants

For citation: Shcherbakova Y.V., Akhmadullina F.Yu., Sirotkin A.S. Prospects for biomonitoring in the quality assessment of casein dairy raw materials. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):337-346. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.986. EDN: SPNSGI.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что усиливающееся негативное антропогенное воздействие на окружающую среду обусловлено ростом производства, большим количеством образующихся отходов, приводящих к загрязнению биосферы в целом, что создает угрозу здоровью человека. Этому также способствует напряженность социальной обстановки, которая обеспечивает рост развития различных патологий, обусловленных в основном снижением антиоксидантного (защитного) статуса организма [1].

В связи с этим значительно возрастает роль продуктов, богатых нутриентами, обладающих антиоксидантной активностью и обеспечивающих укрепление иммунитета. В то же время использование в сельском хозяйстве химических средств защиты, антибиотиков, синтетических кормовых добавок представляет опасность для современного человека, связанную с возможностью их попадания в продукты, используемые для питания, так как они могут стать причиной пищевых отравлений. Кроме того, применение технологий переработки сельскохозяйственного сырья, приводящих к его обеднению биологически активными веществами, а также переход от системы государственных стандартов к техническим условиям неблагоприятно влияют на качество продуктов агропромышленного комплекса.

В контексте вышесказанного важнейшей приоритетной проблемой сегодняшнего дня в области производства пищевой и сельскохозяйственной продукции является разработка и внедрение в практику экспрессных методов контроля качества как сырья, так и продуктов питания, отличающихся высокой чувствительностью, воспроизводимостью, интегральностью, простотой исполнения анализа и достоверностью, при этом дополняющих действующие методы технокимического контроля.

В последнее время наблюдается рост исследовательской активности в области оценки качества и безопасности молока и продуктов на его основе с учетом уникальных свойств молочного сырья, что обусловлено его обязательностью в рационе разновозрастных групп населения, особенно в зонах повышенного экологического риска [2]. Поскольку молоко является скоропортящимся продуктом, на молочных предприятиях в качестве обязательной технологической стадии предусмотрена его термообработка. Наибольшее применение в практике при термообработке молочного сырья нашел метод пастеризации. При этом обеспечивается:

- достижение санитарно-гигиенических требований

для получения безопасного продукта питания с уничтожением патогенной микрофлоры;

- снижение общей бактериальной обсемененности, разрушение ферментов нативного молочного сырья, которые вызывают порчу молока во время хранения;

- направленное изменение физико-химических свойств молока для получения заданных свойств готового продукта (изменяются органолептические свойства, вязкость, плотность сгустка);

- поддержание оптимальных температурных условий для проведения технологических операций, следующих за тепловой обработкой (заквашивание, сгущение, хранение).

При этом следует отметить, что термообработка неизбежно приводит к снижению биохимической ценности, что связано с изменением структуры и свойств всех фракций молока – белковой, липидной, углеводной, а также низкомолекулярных компонентов молочного сырья, ухудшением его качества, что получило подтверждение в ряде фундаментальных исследований [3, 4] (рис. 1).

В результате в целом снижается содержание нативных биологически активных веществ, характерных для данного уникального и практически основного продукта питания человека, что диктует необходимость использования в производственных условиях экспресс-оценки качества молока, позволяющей осуществлять скрининг рационального способа его термообработки.

Данным требованиям в дополнение к стандартным методам технокимического контроля отвечает метод биотестирования, который базируется на использовании живых модельных организмов.

Если раньше для контроля качества пищевой продукции в качестве биотестов использовали высших животных (кроликов, мышей и т.д.), то в последнее время в качестве альтернативных биотестов все большее внимание привлекают низшие организмы, что обусловлено значительным снижением как временных, так и экономических затрат при проведении аналогичных работ. Как показал анализ научно-технической информации, особый интерес вызывают одноклеточные микроорганизмы, в том числе бактериальные тест-объекты. Это обусловлено коротким циклом их развития и, как следствие, возможностью получения в любое время необходимого количества тест-культур. Тем не менее последние не нашли широкого применения в качестве тест-объектов в интересующей нас области [5].

Настоящее исследование направлено на изучение возможности и перспективности использования биотестов

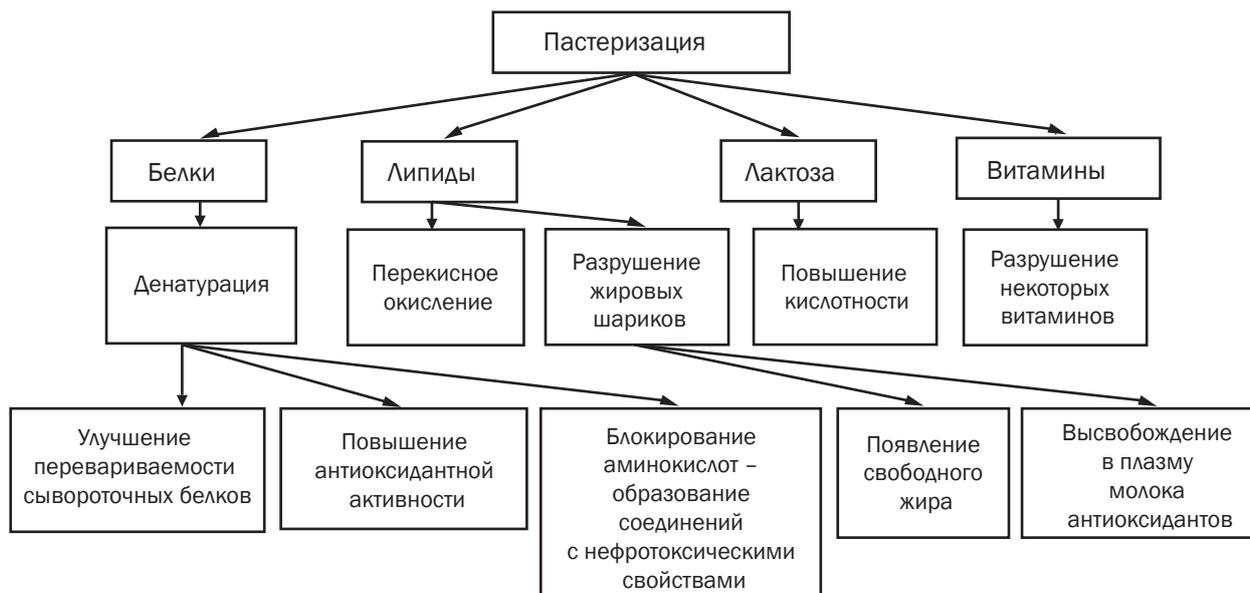


Рис. 1. Влияние пастеризации на качество молока

Fig. 1. Effect of pasteurization on milk quality

для оценки вероятного изменения качественных характеристик козьего молока в производственных условиях при использовании бактериального тест-объекта.

Выбор альтернативного молочного сырья обусловлен возросшей тенденцией увеличения числа и мощности хозяйств, занимающихся разведением коз, что объясняется, в частности, экономической целесообразностью. Кроме того, козье молоко и товарная продукция на его основе привлекают все большее внимание диетологов и педиатров ввиду высокой пищевой и биохимической ценности этого вида сельскохозяйственного сырья и его мощной антиоксидантной системы, обуславливающей его лечебно-профилактические свойства [6].

Целью проведенного исследования являлась разработка методики биотестирования козьего молока при использовании в качестве биотеста *Escherichia coli*.

К задачам, решаемым в работе, относятся:

- скрининг рациональных условий биотестирования козьего молока;
- биодиагностика качества молочного сырья в процессе его термообработки;
- оценка влияния промышленных режимов термообработки на качество молочного сырья.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектами исследования являлись пробы нативного и термообработанного молока коз зааненской породы возраста 1,5–7 лет, отобранного из личных хозяйств. Термообработку проб молочного сырья (40 мл) проводили с учетом промышленных режимов пастеризации (65 °С, 30 мин; 76 °С, 5 мин; 90 °С, 20 с; 95 °С, 5 мин) при условии максимально возможного сокращения времени предварительного нагрева молока до исследуемого режима пастеризации. Пробы молочного сырья погружали в водяную баню, нагретую до 100 °С, и интенсивно перемешивали до достижения необходимой температуры термообработки (65, 76, 90, 95 °С), после чего нагрев

пробы молока продолжали на водяной бане с соответствующими температурами воды (67–68, 78–80 °С) за исключением проб, нагреваемых выше 90 °С.

Приготовление инокулята. При проведении исследования в качестве тест-объекта использовалась суточная культура *E. coli* M-180 из коллекции микроорганизмов Казанского (Приволжского) федерального университета, выращенная на плотной питательной среде (мясопептонном агаре) при температуре 37 °С.

Инокулят тест-объекта готовили на минеральной среде М9 следующего состава: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (1,5 г), Na_2SO_4 (0,6 г), CaCl_2 (0,01 г), NH_4Cl (1 г), KH_2PO_4 (3 г), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,5 г), глюкоза (0,5 г), дистиллированная вода (1000 мл). Для культивирования инокулята использовали плоскодонные конические колбы объемом 250 мл. В них вносили приготовленную минеральную среду в количестве 40 мл. Колбы со средой автоклавировали при 0,5 атм в течение 20 мин. Затем в остывшие колбы стерильно делали смыв бактериальных культур с плотной питательной среды (мясопептонного агара) для приготовления инокулята. Инокулят культивировали в течение суток на качалках со скоростью вращения 150 об/мин при температуре 35 °С.

Проведение биотестирования. При проведении биотестирования в колбы со средой М9 стерильно вносили суточный инокулят бактериальной культуры из расчета начальной оптической плотности, приблизительно равной 0,1, с последующим добавлением проб молока. Клетки *E. coli* M-180 культивировали в аэробных условиях на качалках со скоростью вращения 150 об/мин при температуре 35 °С. За ростом бактерий следили по изменению оптической плотности среды культивирования с инокулятом, измеряемой на фотоколориметре КФК-2 (АО «ЗОМС», Россия) при $\lambda = 590$ нм в кварцевых кюветах 1 см через каждые 30 мин.

Скорость роста V , ед. оптической плотности в %, рассчитывали для логарифмической фазы на кривой роста по следующей формуле:

$$V = \frac{D_k - D_n}{t},$$

где D_k – оптическая плотность, соответствующая концу экспоненциальной фазы роста, % от начального значения оптической плотности; D_n – оптическая плотность, соответствующая началу экспоненциальной фазы роста, % от начального значения оптической плотности; t – продолжительность экспоненциальной фазы роста, ч.

Оценка стрессоустойчивости тест-объекта. При исследовании стрессоустойчивости тест-объекта в середине логарифмической фазы роста бактериальной культуры создавали условия окислительного стресса путем внесения в питательную среду пероксида водорода с концентрацией в среде 10 мМ. До внесения пероксида водорода и через 30 мин после его внесения определяли количество колоний *E. coli* в каждой колбе методом высевов проб на плотную питательную среду Эндо, являющуюся слабоселективной дифференциально-диагностической средой для выделения бактерий группы кишечной палочки [7].

В пробах молока дополнительно оценивали общее количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов с помощью высевов на плотную питательную среду КМАФАнМ следующего состава: пептон из казеина (5 г), дрожжевой экстракт (2,5 г), сухое молоко обезжиренное (1 г), глюкоза (1 г), агар-агар (10,5 г), дистиллированная вода (1000 мл) [8].

Определение супероксид-аниона ($O_2^{\cdot-}$) в термообработанных пробах молочного сырья. Сущность метода заключается в превращении адреналина (эпинефрина) – акцептора электронов – в адrenoхром при взаимодействии с супероксид-анионом. При этом происходит окрашивание раствора, интенсивность которого измеряют на спектрофотометре.

Так как молоко является гетерогенной системой, что затрудняет применение для него спектрофотометрических методов, определение генерации супероксид-аниона проводили для сыворотки. Для этого в чистые центрифужные пробирки вносили по 8 мл пробы молока и 10% раствора трихлоруксусной кислоты; содержимое перемешивали и центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин, после чего сыворотку в объеме 40 мл подвергали термообработке. Термообработанную пробу

быстро охлаждали в контейнере со льдом с последующим определением супероксид-аниона. Для этого в пробирке смешивали 50 мкл соответствующей молочной пробы с 1 мл раствора 1 мМ адреналина (рН 6,8). О генерации $O_2^{\cdot-}$ судили по превращению адреналина в течение 15 мин в адrenoхром. Реакцию останавливали внесением 50 мкл 0,05н HCl. Определение оптической плотности проводили при длине волны 480 нм с использованием в кювете сравнения дистиллированной воды вместо молочной пробы.

Концентрацию адrenoхрома M , М/мл $\times 10^{-5}$, рассчитывали по формуле:

$$M = \frac{E}{\varepsilon \times l},$$

где E – оптическая плотность, ед. оптической плотности; ε – молярная экстинкция вещества, равная 4020 М⁻¹см⁻¹; l – длина кюветы, равная 1,05 мм.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При разработке биометода оценки качества термообработанного козьего молока была использована тестовая биосистема *E. coli* М-180, которая отличается высокой чувствительностью, скоростью роста, низкой затратностью, обуславливает экспрессность предлагаемого метода и, что самое главное, позволяет оценить изменение антиоксидантных свойств при тепловой обработке. В производственных условиях это дает возможность осуществить достоверный выбор наиболее рационального способа термообработки козьего молока, обеспечивающего максимально возможную сохранность нативных биологически активных веществ исходного сырья.

В качестве основных тест-реакций биомодели были выбраны стрессоустойчивость и ростовые характеристики – скорость роста и прирост биомассы.

Метод биодиагностики предназначен только для термообработанных проб козьего молока при промышленных режимах пастеризации, обеспечивающих полное уничтожение (гибель) кишечной палочки нативного молочного сырья, что экспериментально подтверждалось в каждом опыте (табл. 1).

Выбор синтетической среды М9 для культивирования тест-объекта был обусловлен необходимостью

Таблица 1. Содержание бактерий группы *Escherichia coli*, КОЕ/см³, в нативном и пастеризованном козьем молоке

Table 1. Content of *Escherichia coli* bacteria, CFU/cm³, in native and pasteurized goat's milk

Номер опыта	Режим пастеризации				
	Нативное молоко	65 °С, 30 мин	76 °С, 5 мин	90 °С, 20 с	95 °С, 5 мин
1	111000	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
2	122000	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
3	45600	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
4	86300	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
5	137000	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
6	52300	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
7	87500	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
8	100000	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
9	113000	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.

Примечание. Н.о. – не обнаружено.

выявления влияния биологически активных веществ компонентов молока, включая белки, аминокислоты, витамины и т.д. Проведенные исследования в серии опытов подтвердили перспективность ее использования: высокая оптическая плотность инокулята, его однородность, быстрый выход на стационарную фазу роста за 2–3 ч позволили рекомендовать этот метод биотестирования в качестве экспрессного и осуществить подробный анализ кривых роста культуры (табл. 2, 3).

Таблица 2. Показатели инокулята бактерии *Escherichia coli* M-180 на питательной среде М9

Table 2. Indicators of the inoculum of the bacterium *Escherichia coli* M-180 cultivated on the nutrient medium M9

Номер опыта	Показатель	Значение
1	Характеристика	мутный, однородный
	Оптическая плотность	0,20
2	Характеристика	мутный, однородный
	Оптическая плотность	0,21
3	Характеристика	мутный, однородный
	Оптическая плотность	0,20
4	Характеристика	мутный, однородный
	Оптическая плотность	0,22
5	Характеристика	мутный, однородный
	Оптическая плотность	0,21

При разработке биоаналитического метода предварительно определяли концентрацию козьего молока, вносимого в среду культивирования тест-объекта. Диапазон варьирования концентраций молока составил от $0,125 \times 10^{-3}$ до $0,5 \times 10^{-3}$ мл/мл среды (рис. 2) с учетом необходимой оценки влияния комплекса биологически активных веществ козьего молока, которые могут проявлять свое действие в сверхмалых дозах [9, 10].

Согласно полученным данным, наилучшие результаты при проведении биотестирования термообработанных проб молочного сырья были получены при добавлении козьего молока в среду культивирования в концентрации $0,125 \times 10^{-3}$ мл/мл среды.

Обобщенные результаты серии экспериментальных исследований по влиянию козьего молока при различных режимах его термообработки на рост биотеста приведены на рис. 3.

Оценка качества молока после его термообработки осуществлялась по основному показателю роста бак-

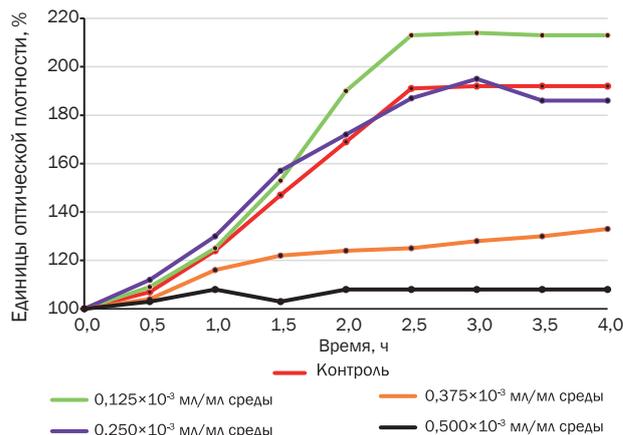


Рис. 2. Влияние козьего молока на рост культуры *Escherichia coli* M-180 в концентрациях от $0,125 \times 10^{-3}$ до $0,5 \times 10^{-3}$ мл/мл среды

Fig. 2. Goat's milk effect on the growth of *Escherichia coli* M-180 culture at the concentrations from 0.125×10^{-3} to 0.5×10^{-3} ml/ml of medium

териальной культуры – скорости роста, которая определяется полноценностью состава среды культивирования.

Получено однозначное экспериментальное подтверждение о достоверном различии скоростей роста тест-культуры при добавлении в среду культивирования пастеризованного при различных режимах молочного сырья. При этом тенденции изменения скоростей роста бактериальной культуры в зависимости от пробы пастеризованного молока от опыта к опыту повторяются. Следует отметить как увеличение, так и снижение рост-стимулирующих свойств термообработанного козьего молока по сравнению с контролем. Наиболее вероятное объяснение наблюдаемого факта заключается в различии в нативном составе исследуемых образцов молочного сырья, зависящем от ряда факторов, включающих стар-вацию, возраст животного и рацион питания.

Что касается термообработанных проб, то в подавляющем большинстве проведенных экспериментов (~94%) наибольшими ростстимулирующими свойствами обладали пробы молока, обработанного в режимах 76 °С, 5 мин и 90 °С, 20 с. При этом необходимо отметить, что в ряде экспериментов (~33%) удельные скорости роста тест-объекта были сопоставимы для данных режимов.

Вероятно, данные режимы тепловой обработки обеспечивают как наибольшую сохранность нативных антиоксидантов молочного сырья, так и дополнительное высвобождение в плазму молока ряда биологически активных компонентов, которые могут служить для данной

Таблица 3. Фазы роста *Escherichia coli* M-180 на питательной среде М9

Table 3. Growth phases of *Escherichia coli* M-180 cultivated on M9 nutrient medium

Номер опыта	Лag-фаза, ч	Экспоненциальная фаза, ч	Фаза замедления, ч	Стационарная фаза, ч
1	с 0 по 0,5	с 0,5 по 1,5	с 1,5 по 2,0	с 2,0
2	с 0 по 0,5	с 0,5 по 1,5	с 1,5 по 2,0	с 2,0
3	с 0 по 0,5	с 0,5 по 1,5	с 1,5 по 2,0	с 2,0
4	с 0 по 0,5	с 0,5 по 1,5	с 1,5 по 2,0	с 2,0
5	с 0 по 0,5	с 0,5 по 1,5	с 1,5 по 2,5	с 2,5

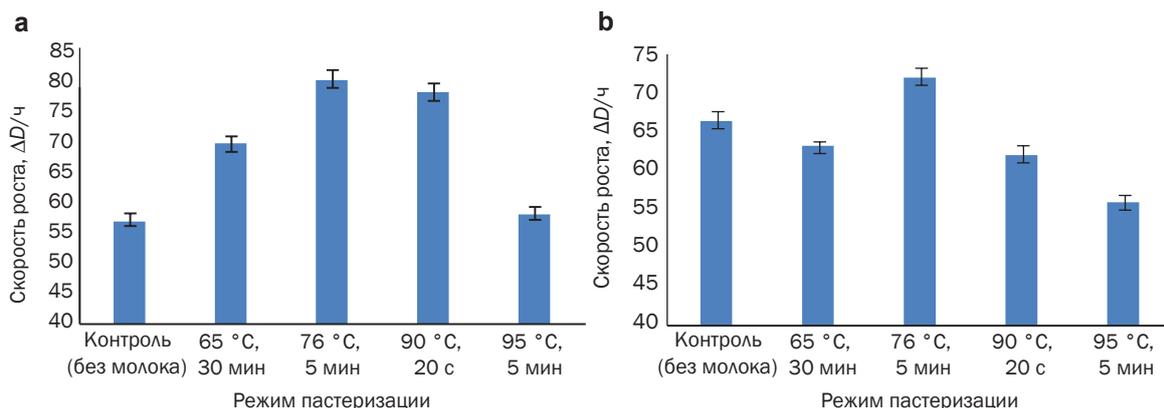


Рис. 3. Влияние козьего молока при различных режимах термообработки на рост культуры *Escherichia coli* M-180: а, b – разные доноры молока

Fig. 3. Goat's milk effect on the growth of *Escherichia coli* M-180 culture under different heat treatment conditions: а, b – different milk donors

бактериальной культуры факторами роста – витаминов, аминокислот, низкомолекулярных пептидов [11, 12].

Более жесткие режимы пастеризации молока приводят к снижению его ростстимулирующих свойств, что, согласно данным литературы, связано с более глубокими деструкционными процессами, протекающими при термообработке, обуславливающими снижение концентрации антиоксидантов – факторов роста. Этому также способствует более интенсивное образование активных форм кислорода при жестких режимах тепловой обработки, негативно влияющих на противоокислительные свойства молока. Данный факт подтверждается проведенными нами исследованиями в области образования супероксид-анион радикала, являющегося родоначальником всех активных форм кислорода (табл. 4), для проб молока различных доноров. В соответствии с общепринятой концепцией [3, 13–15] недостаток в организме природных антиоксидантов (в нашем случае экспериментов с добавлением молока, обработанного при жестких режимах пастеризации, с более низкой антиоксидантной активностью) приводит к интенсификации окислительных процессов в липидах клеточных мембран и к появлению в них большого количества продуктов окисления. Известно, что продукты перекисного окисления липидов являющиеся ингибиторами клеточного размножения и повышение или понижение их концентрации соответственно приводит к замедлению или ускорению клеточного деления, что сказывается на скорости роста [14, 15].

Наличие факторов роста в среде культивирования должно сопровождаться приростом биомассы. В связи с этим в работе наряду с изменением скорости роста бактериальной культуры оценивали прирост биомассы (в процентах по отношению к начальному значению оптической плотности) (рис. 4).

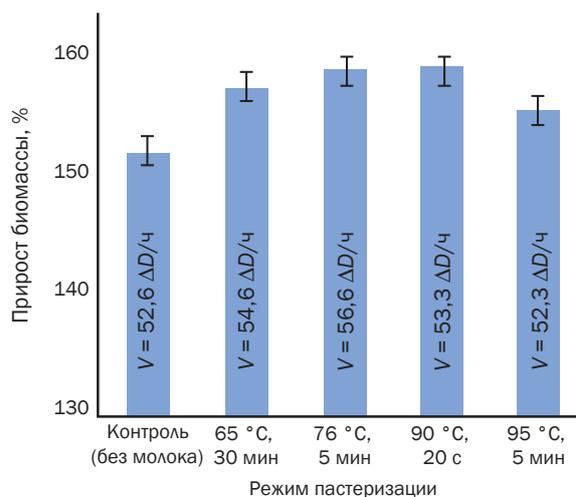


Рис. 4. Влияние пастеризованного молока на скорость роста и прирост биомассы культуры *Escherichia coli* M-180

Fig. 4. Pasteurized milk effect on the growth rate and biomass growth of *Escherichia coli* M-180 culture

Таблица 4. Влияние термообработки на содержание супероксид-аниона, $M/ml \times 10^{-5}$

Table 4. Heat treatment effect on the superoxide anion content, $M/ml \times 10^{-5}$

Номер донора	Режим пастеризации			
	65 °C, 30 мин	76 °C, 5 мин	90 °C, 20 с	95 °C, 5 мин
1	1,64±0,10	1,40±0,09	1,47±0,06	1,83±0,08
2	1,82±0,08	1,74±0,07	1,87±0,12	2,05±0,10
3	4,65±0,25	1,99±0,11	2,40±0,12	3,36±0,15
4	6,12±0,12	2,37±0,23	3,40±0,11	3,80±0,12
5	4,79±0,21	1,06±0,21	1,72±0,11	1,84±0,07
6	8,54±0,18	5,71±0,15	5,98±0,21	5,60±0,25
7	7,64±0,23	4,72±0,09	5,15±0,09	6,88±0,10

Следует отметить хорошее согласование результатов, полученных в отношении влияния режима термообработки на два параметра роста тест-культуры – скорость роста и прирост биомассы.

Наряду с ростовыми характеристиками в ходе работы дополнительно изучали влияние режимов пастеризации козьего молока на стрессоустойчивость контрольного тест-объекта. В качестве стрессора была выбрана перекись водорода, которая является индикатором повреждения преимущественно липидной части мембраны. Использовалась перекись водорода в концентрации 10 мМ, вызывающая пероксидный стресс у выбранного тест-объекта и обладающая по отношению к нему бактерицидным действием [16].

Критерием оценивания в данной серии экспериментов являлась выживаемость *E. coli* в условиях пероксидного стресса – количество выросших колоний бактериальной культуры после обработки перекисью водорода в течение 30 мин, выраженное в процентах по отношению к количеству колоний кишечной палочки до стресса.

При проведении исследований на этом этапе предварительно определяли необходимое разведение изучаемых проб для высева на среду Эндо в соответствии с описанием, приведенным в экспериментальной части данной статьи (табл. 5).

В результате исследований была показана необходимость разведения 1:10⁶ и 1:10⁵ до и после внесения стрессора в исследуемые пробы среды культивирования тест-объекта соответственно.

При оценке влияния режима термообработки молока на стрессоустойчивость биотеста эксперименты проводили аналогично с учетом установленного разведения, сопоставляя изменение обсемененности исследуемых проб в относительных единицах (рис. 5). В качестве контроля служили пробы без добавления молока.

Наибольшая выживаемость бактериальной культуры в условиях стресса, вызванного действием перекиси водорода, наблюдается при добавлении в синтетическую среду культивирования *E. coli* M-180 козьего молока, обработанного при режимах пастеризации 76 °С, 5 мин и 90 °С, 20 с. Очевидно, данные режимы позволяют сохранить компоненты молока, которые препятствуют протеканию окислительного стресса, способствуя сохранению колониеобразующих частиц бактериальной культуры. Кроме того, тепловая обработка при высоких температурах (76, 90 °С) и малом времени выдержки (5 мин, 20 с) обеспечивает уменьшение соединений, обладающих ингибирующим действием по отношению к бактериальной культуре,

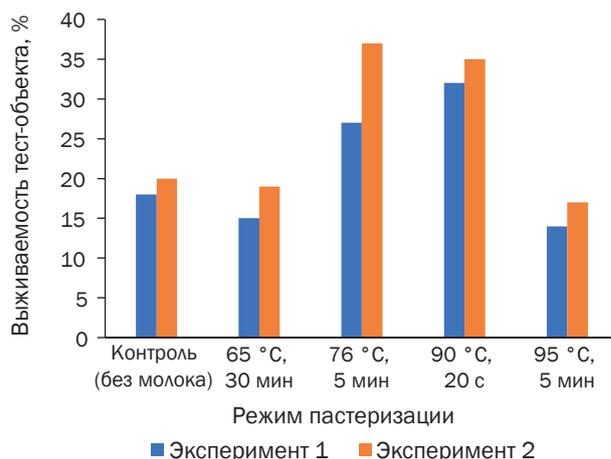


Рис. 5. Влияние термообработанного козьего молока на стрессоустойчивость бактерии *Escherichia coli* M-180

Fig. 5. Heat-treated goat's milk effect on the stress resistance of the bacterium *Escherichia coli* M-180

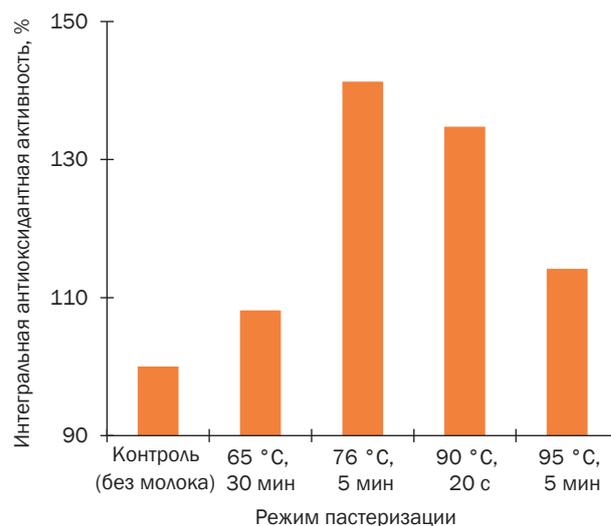


Рис. 6. Влияние режимов термообработки молочного сырья казеинового типа на его интегральную антиоксидантную активность

Fig. 6. Heat treatment modes effect of casein-type dairy raw materials on its integral antioxidant activity

Таблица 5. Разведения исследованных проб бактериальной культуры *Escherichia coli* M-180 для высева на среду Эндо в середине логарифмической фазы роста

Table 5. Dilution of the studied samples of *Escherichia coli* M-180 bacterial culture for seeding on Endo medium in the middle of the logarithmic growth phase

Номер пробы	Разведение исследованных проб											
	до стресса						после стресса					
	1:10	1:10 ²	1:10 ³	1:10 ⁴	1:10 ⁵	1:10 ⁶	1:10	1:10 ²	1:10 ³	1:10 ⁴	1:10 ⁵	1:10 ⁶
1	∞	∞	∞	∞	1000	240	∞	∞	∞	∞	220	20
2	∞	∞	∞	∞	1220	190	∞	∞	∞	∞	140	6
3	∞	∞	∞	∞	1170	130	∞	∞	∞	∞	150	9

таких как ряд ферментов, продуцирующих активные формы кислорода, например ксантиноксидаза, а также выход в плазму молока дополнительных факторов роста за счет процессов деструктурирования веществ – их источников. К ним относятся микро- и макроэлементы, аминокислоты, низкомолекулярные пептиды, ряд витаминов. Известно, что практически все эти факторы роста обладают антиоксидантной активностью. В связи с этим клеточная популяция микроорганизмов, выращенная в среде, богатой антиоксидантами (пробы с добавлением молока, обработанного при режимах 76 °С, 5 мин и 90 °С, 20 с), характеризуется повышенной физиологической активностью и более высокими адаптационными способностями, что согласуется с литературными данными [17–20].

Результаты собственных исследований по суммарной противooksидательной активности козьего молока, обработанного при вышеуказанных режимах, полученных методом гальваностатической кулонометрии [3], хорошо согласуются с результатами проведенной биодиагностики (рис. 6).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Кравченко С.Д., Козлова Н.М., Тирикова О.В., Бахтаирова В.И. Антиоксиданты как потенциальные биомаркеры стадий неалкогольной жировой болезни печени // Байкальский медицинский журнал. 2023. Т. 2. N 4. С. 24–32. DOI: 10.57256/2949-0715-2023-4-24-32. EDN: FVUEEA.

2. Чаплыгина О.С., Козлова О.В., Жарко М.Ю., Петров А.Н. Оценка биологической безопасности молочных продуктов, содержащих антибиотики // Техника и технология пищевых производств. 2023. Т. 53. N 1. С. 192–201. DOI: 10.21603/2074-9414-2023-1-2427. EDN: MGZXCf.

3. Щербакова Ю.В., Ахмадулина Ф.Ю., Егорова Е.А. Перспективы использования метода гальваностатической кулонометрии для оценки интегральной антиоксидантной активности молока и кисломолочной продукции: монография. Казань: Изд-во КНИТУ, 2019. 128 с.

4. Щербакова Ю.В., Семенова Ю.В., Багаудинова Г.Р., Насрулина К.А., Ахмадулина Ф.Ю. Метод биотестирования для контроля качества молочного сырья при промышленных режимах термообработки // Химическая безопасность. 2020. Т. 4. N 2. С. 282–292. DOI: 10.25514/CHS.2020.2.18020. EDN: РСМСТН.

5. Зарицкая Е.В., Полозова Е.В., Шилов В.В., Богачева А.С. Современные альтернативные методы исследования, используемые для оценки безопасности продукции // Экология человека. 2017. N 3. С. 21–25. DOI: 10.33396/1728-0869-2017-3-21-25. EDN: XHRUYR.

6. Симоненко С.В., Фелик С.В., Симоненко Е.С., Антипова Т.А., Шуварики А.С., Пастух О.Н. Козье молоко – ценное сырье для производства детских молочных продуктов // Овцы, козы, шерстяное дело. 2017. N 4. С. 35–36. EDN: ZXKVKF.

7. Юшин Ю.В., Подкопайло Р.В., Петрова Д.А., Егоров К.А., Трухин В.П. Обзор питательных сред, используемых для культивации рекомбинантной *Escherichia coli* // Медицина экстремальных ситуаций. 2019. Т. 21. N 3. С. 444–453. EDN: IJNIDN.

8. Knysh A., Sokolov P., Nabiev I. Dynamic light scattering analysis in biomedical research and applications of nanoparticles and polymers // Journal of Biomedical

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенной работы на основании серии экспериментальных исследований установлена возможность и перспективность применения метода биотестирования с использованием бактерий *E. coli* M-180 как тест-объекта для оценки качества козьего молока в производственных условиях при его введении в среду культивирования в объемной концентрации $0,125 \times 10^{-3}$ мл/мл среды. Показана высокая чувствительность выбранного биотеста, что подтверждается как ростстимулирующими показателями (скорость роста, прирост биомассы), так и данными стрессоустойчивости *E. coli* M-180 по отношению к пероксиду водорода. Выявлено, что промышленные режимы пастеризации 76 °С, 5 мин и 90 °С, 20 с являются наиболее эффективными, обеспечивающими наиболее высокую сохранность нативных биологически активных веществ козьего молока.

Photonics & Engineering. 2023. Vol. 9, no. 2. P. 020203. DOI: 10.18287/JBPE23.09.020203.

9. Zarkovic N. Antioxidants and second messengers of free radicals // Antioxidants. 2018. Vol. 7, no. 11. P. 158. DOI: 10.3390/antiox7110158.

10. Zarkovic N. Roles and functions of ROS and RNS in cellular physiology and pathology // Cells. 2020. Vol. 9, no. 3. P. 767. DOI: 10.3390/cells9030767.

11. Bzducha-Wróbel A., Pobjega K., Błażej S., Kieliszek M. The scale-up cultivation of *Candida utilis* in waste potato juice water with glycerol affects biomass and $\beta(1,3)/(1,6)$ -glucan characteristic and yield // Applied Microbiology and Biotechnology. 2018. Vol. 102. P. 9131–9145. DOI: 10.1007/s00253-018-9357-y.

12. Kieliszek M., Błażej S., Bzducha-Wróbel A., Kot A.M. Effect of selenium on growth and antioxidative system of yeast cells // Molecular Biology Reports. 2019. Vol. 46, no. 2. P. 1797–1808. DOI: 10.1007/s11033-019-04630-z.

13. Брусков В.И., Черников А.В., Гудков С.В., Масалимов Ж.К. Активация восстановительных свойств анионов морской воды под действием тепла // Биофизика. 2003. Т. 48. N 6. С. 1022–1029. EDN: OPJFND.

14. Иванов В.Е., Черников А.В., Гудков С.В., Брусков В.И. Образование долгоживущих активных форм белков под действием тепла в растворах желатина и казеина // Биофизика. 2018. Т. 63. N 5. С. 873–879. DOI: 10.1134/S0006302918050058. EDN: UZHUYs.

15. Беловолова Л.В. Активные формы кислорода в водных средах (обзор) // Оптика и спектроскопия. 2020. Т. 128. N 7. С. 923–942. DOI: 10.21883/OS.2020.07.49565.64-20. EDN: KDOPYB.

16. Самойлова З.Ю., Безматерных К.В., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н. Оценка пребиотической активности экстрактов растений для разработки препаратов, стимулирующих кишечную микрофлору // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. 2016. N 4. С. 362–367. EDN: XDYBLR.

17. Huang M.L.-H., Chiang S., Kalinowski D.S., Bae D.-H., Sahni S., Richardson D.R. The role of the antioxidant response in mitochondrial dysfunction in degenerative diseases: cross-talk between antioxidant defense, auto-

phagy, and apoptosis // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019. P. 6392763. DOI: 10.1155/2019/6392763.

18. Кузник Б.И., Линькова Н.С., Ивко О.М. Оксидативный стресс, старение и короткие пептиды // *Успехи физиологических наук*. 2021. Т. 52. N 2. С. 13–20. DOI: 10.31857/S0301179821020041. EDN: DSCWEW.

19. Cabello-Verrugio C., Simon F., Trollet C., Santibañez J.F. Oxidative stress in disease and aging: mechanisms

and therapies 2016 // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017. P. 4310469. DOI: 10.1155/2017/4310469.

20. Мартусевич А.К., Карузин К.А. Метаболическая оценка эффективности применения витаминно-минеральных комплексов у профессиональных спортсменов // *Вопросы питания*. 2021. Т. 90. N 1. С. 94–101. DOI: 10.33029/0042-8833-2021-90-1-94-101. EDN: YZEGGG.

REFERENCES

1. Kravchenko S.D., Kozlova N.M., Tirikova O.V., Bakhtairova V.I. Antioxidants as potential biomarkers of nonalcoholic fatty liver disease stages. *Baikal Medical Journal*. 2023;2(4):24-32. (In Russian). DOI: 10.57256/2949-0715-2023-4-24-32. EDN: FVUEEA.

2. Chaplygina O.S., Kozlova O.V., Zharko M.Yu., Petrov A.N. Assessing the biological safety of dairy products with residual antibiotics. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2023;53(1):192-201. (In Russian). DOI: 10.21603/2074-9414-2023-1-2427. EDN: MGZXCf.

3. Shcherbakova Yu.V., Akhmadullina F.Yu., Egorova E.A. *Prospects for using the galvanostatic coulometry method to assess the integral antioxidant activity of milk and fermented milk products*. Kazan: Kazan National Research Technological University; 2019, 128 p. (In Russian).

4. Shcherbakova Yu.V., Semenova Yu.V., Bagautdinova G.R., Nasrulina K.A., Akhmadullina F.Yu. Bio-testing approach for quality control of dairy raw materials under industrial heat treatment modes. *Chemical Safety Science*. 2020;4(2):282-292. (In Russian). DOI: 10.25514/CHS.2020.2.18020. EDN: PCMCTH.

5. Zaritskaya E.V., Polozova E.V., Shilov V.V., Bogacheva A.S. Present alternative study methods used in product safety assessment. *Human Ecology*. 2017;3:21-25. DOI: 10.33396/1728-0869-2017-3-21-25. EDN: XRUYYR. (In Russian).

6. Simonenko S.V., Felik S.V., Simonenko E.S., Antipova T.A., Shuvarikov A.S., Pastukh O.N. Goat milk – a valuable raw material for the production of baby dairy products. *Sheep, Goats, Wool Business*. 2017;4:35-36. (In Russian). EDN: ZXKVKF.

7. Yushin Yu.V., Podkopailo R.V., Petrova D.A., Egorov K.A., Trukhin V.P. Review of nutrient media used for cultivation of recombinant *Escherichia coli*. *Meditsina ekstremal'nykh situatsii*. 2019;21(3):444-453. (In Russian). EDN: IJNIDN.

8. Knysh A., Sokolov P., Nabiev I. Dynamic light scattering analysis in biomedical research and applications of nanoparticles and polymers. *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. 2023;9(2):020203. DOI: 10.18287/JBPE23.09.020203.

9. Zarkovic N. Antioxidants and second messengers of free radicals. *Antioxidants*. 2018;7(11):158. DOI: 10.3390/antiox7110158.

10. Zarkovic N. Roles and functions of ROS and RNS in cellular physiology and pathology. *Cells*. 2020;9(3):767. DOI: 10.3390/cells9030767.

11. Bzducha-Wróbel A., Pobiega K., Błażej S., Kieliszek M. The scale-up cultivation of *Candida utilis* in waste potato juice water with glycerol affects biomass and $\beta(1,3)/(1,6)$ -glucan characteristic and yield. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2018;102:9131-9145. DOI: 10.1007/s00253-018-9357-y.

12. Kieliszek M., Błażej S., Bzducha-Wróbel A., Kot A.M. Effect of selenium on growth and antioxidative system of yeast cells. *Molecular Biology Reports*. 2019;46(2):1797-1808. DOI: 10.1007/s11033-019-04630-z.

13. Bruskov V.I., Chernikov A.V., Gudkov S.V., Masalimov Zh.K. Thermal activation of the reducing properties of seawater anions. *Biofizika*. 2003;48(6):1022-1029. (In Russian). EDN: OPJFND.

14. Ivanov V.E., Chernikov A.V., Bruskov V.I., Gudkov S.V. The formation of long-lived reactive protein species in heat-treated solutions of gelatin and casein. *Biofizika*. 2018;63(5):873-879. (In Russian). DOI: 10.1134/S0006302918050058. EDN: UZHUYs.

15. Belovolova L.V. Reactive oxygen species in aqueous media (a review). *Optika i spektroskopiya*. 2020;128(7):923-942. (In Russian). DOI: 10.21883/OS.2020.07.49565.64-20. EDN: KDOPYB.

16. Samoilova Z.Yu., Bezmaternykh K.V., Smirnova G.V., Oktyabrsky O.N. Evaluation of prebiotic activity of plant extracts towards development of preparations stimulating intestinal microflora. *Bulletin of Perm University. Biology*. 2016;4:362-367. (In Russian). EDN: XDYBLR.

17. Huang M.L.-H., Chiang S., Kalinowski D.S., Bae D.-H., Sahni S., Richardson D.R. The role of the antioxidant response in mitochondrial dysfunction in degenerative diseases: cross-talk between antioxidant defense, autophagy, and apoptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;6392763. DOI: 10.1155/2019/6392763.

18. Kuznik B.I., Linkova N.S., Ivko O.M. Oxidative stress, aging and short peptides. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2021;52(2):13-20. (In Russian).

19. Cabello-Verrugio C., Simon F., Trollet C., Santibañez J.F. Oxidative stress in disease and aging: mechanisms and therapies 2016. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;4310469. DOI: 10.1155/2017/4310469.

20. Martusevich A.K., Karuzin K.A. Metabolic estimation of efficiency of vitamin and mineral complexes in qualified athletes. *Voprosy pitaniya*. 2021;90(1):94-101. (In Russian). DOI: 10.33029/0042-8833-2021-90-1-94-101. EDN: YZEGGG.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Щербакова Юлия Владимировна,
к.б.н., доцент, доцент,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
✉ balakirevajulia3@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7534-7119>

Ахмадулина Фарида Юнусовна,
старший преподаватель,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
akhmadullina1951@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6538-5616>

Сироткин Александр Семенович,
д.т.н., профессор, заведующий кафедрой,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
asirotkin66@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4480-9907>

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Yulia V. Shcherbakova,
Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Associate Professor,
Kazan National Research
Technological University,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
✉ balakirevajulia3@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7534-7119>

Farida Yu. Akhmadullina,
Senior Lecturer,
Kazan National Research
Technological University,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
akhmadullina1951@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6538-5616>

Alexander S. Sirotkin,
Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Head of the Department,
Kazan National Research
Technological University,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
asirotkin66@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4480-9907>

Вклад авторов

Ю.В. Щербакова – проведение исследования,
разработка методологии, написание черновика
рукописи, редактирование рукописи.
Ф.Ю. Ахмадулина – разработка концепции,
написание черновика рукописи,
редактирование рукописи.
А.С. Сироткин – курирование данных,
написание черновика рукописи,
редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 11.04.2025.
Одобрена после рецензирования 07.08.2025.
Принята к публикации 19.08.2025.

Contribution of the authors

Yulia V. Shcherbakova – investigation,
methodology, writing – original draft, editing.
Farida Yu. Akhmadullina – conceptualization,
writing – original draft, editing.
Aleksandr S. Sirotkin - data curation,
writing – original draft, editing.

Conflict of interest

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 11.04.2025.
Approved after reviewing 07.08.2025.
Accepted for publication 19.08.2025.

Научная статья
УДК 664.162.036.4:577.15
EDN: VJADRE
DOI: 10.21285/achb.990



Сравнительная оценка ферментных препаратов для конверсии предобработанной шелухи овса

Е.И. Кашеева✉, В.В. Будаева, В.Н. Золотухин

Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН, Бийск, Российская Федерация

Аннотация. Ферментативный гидролиз предварительно обработанного лигноцеллюлозного сырья с целью получения сбраживаемых сахаров является одним из критических этапов в технологии производства продуктов биосинтеза с добавленной стоимостью. В данной работе проводилась сравнительная оценка ферментных препаратов и композиций на их основе для конверсии продукта азотнокислой обработки шелухи овса. Гидролиз осуществлялся при начальной концентрации субстрата 30 г/л, pH 4,7 и температуре (46±2) °С. Сравнительной оценке подвергались три ферментных препарата, полученные от разных производителей: «Агроцелл плюс» (ООО «Агрофермент», Россия), «Целлолюкс-А» (ООО ПО «Сиббиофарм», Россия), «Ультрафло Макс» (Novozymes A/S, Дания). Путем сравнения эффективности индивидуальных ферментных препаратов установлено, что выход редуцирующих веществ от массы субстрата составляет 53, 40 и 51% соответственно. Добавление к ферментным препаратам «Агроцелл Плюс» или «Целлолюкс-А» с высокой целлюлазной активностью дополнительной β -глюканазы («Ультрафло Макс») приводит к увеличению выхода редуцирующих веществ в 1,3–1,5 раза. Максимальный выход редуцирующих веществ 72%, что соответствует 99% гидролиза доступной части субстрата, наблюдается при гидролизе композицией из трех ферментных препаратов. Методом растровой электронной микроскопии субстрата до и после гидролиза подтверждена эффективность применения композиций и установлено различие между остатками фрагментированного субстрата после гидролиза индивидуальными препаратами и мультиэнзимными композициями в пользу последних. Все полученные гидролизаты продукта азотнокислой обработки шелухи овса характеризуются как глюкозные: вклад глюкозы в общую концентрацию редуцирующих веществ составляет 85–91%, что позволяет предположить их успешное использование для биосинтеза.

Ключевые слова: шелуха овса, кислотная предварительная обработка, ферментативный гидролиз, мультиэнзимная композиция

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Минобрнауки в рамках госзадания ИПХЭТ СО РАН (код научной темы FUFЕ-2024-0008, регистрационный номер 124021200031-4).

Для цитирования: Кашеева Е.И., Будаева В.В., Золотухин В.Н. Сравнительная оценка ферментных препаратов для конверсии предобработанной шелухи овса // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 347–356. DOI: 10.21285/achb.990. EDN: VJADRE.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Comparative evaluation of enzyme cocktails for conversion of pretreated oat hulls

Ekaterina I. Kashcheyeva✉, Vera V. Budaeva, Vladimir N. Zolotukhin

Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences, Biysk, Russian Federation

Abstract. The enzymatic hydrolysis of pretreated lignocellulosic feedstock is a critical step in the production of value-added biosynthesis products. This work presents a comparative evaluation of commercial enzyme prepara-

tions and their combinations for converting oat hulls following nitric acid pretreatment. Hydrolysis was carried out at an initial substrate concentration of 30 g/L, pH 4.7, and a temperature of (46±2) °C. The study evaluated three enzyme preparations from different manufacturers, including Agrocell Plus (Agroferment LLC, Russia), Cellolux-A (Sibbiofarm LLC, Russia), and Ultraflo Max (Novozymes A/S, Denmark). The evaluation of the individual preparations revealed that the yield of reducing substances from the substrate mass was 53%, 40%, and 51%, respectively. The addition of supplementary β -glucanase (Ultraflo Max) to the enzyme preparations Agrocell Plus or Cellolux-A, which exhibit high cellulase activity, resulted in a 1.3–1.5-fold increase in reducing substance yield. The maximum yield of reducing substances of 72%, corresponding to 99% hydrolysis of the available substrate portion, was observed during hydrolysis using a combination of all three enzyme preparations. Scanning electron microscopy of the substrate before and after hydrolysis confirmed the effectiveness of the mixed preparations and revealed a difference in the residual fragmented substrate after hydrolysis by the individual preparations versus the multi-enzyme compositions, in favor of the latter. All hydrolysates obtained from the nitric acid-pretreated oat hulls were characterized as glucose-based, with the total concentration of glucose amounting to 85–91%. This composition suggests a high potential for successful use in subsequent biosynthesis processes.

Keywords: oat hulls, acid pretreatment, enzymatic hydrolysis, multi-enzyme composition

Funding. The Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation supported the study under project no. FUFЕ-2024-0008 (Theme Registration ID: 124021200031-4).

For citation: Kashcheyeva E.I., Budaeva V.V., Zolotukhin V.N. Comparative evaluation of enzyme cocktails for conversion of pretreated oat hulls. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):347-356. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.990. EDN: BJADRE.

ВВЕДЕНИЕ

Лигноцеллюлозное сырье (ЛЦС) является самым распространенным и дешевым ресурсом в мире [1]. Продукция, полученная из ЛЦС, имеет большой потенциал для замены продуктов, получаемых из ископаемых видов топлива, тем самым играя ключевую роль в переходе к биоэкономике [2, 3]. Конверсия ЛЦС имеет решающее значение для глобального углеродного цикла, поскольку при ней происходит перенос значительного количества углерода из его фиксированного хранилища в атмосферу [4]. Однако разработка эффективного, экономически выгодного и экологически безопасного процесса максимальной переработки компонентов ЛЦС в полезные продукты, позволяющего полностью использовать компоненты сырья и при этом предотвращать образование нежелательных побочных продуктов, остается сложной задачей [5, 6]. Использование ферментов предлагает многообещающий путь при переработке ЛЦС из-за их высокой селективности при гидролизе полисахаридов сырья (целлюлозы и гемицеллюлоз) в простые сбраживаемые сахара, такие как глюкоза и ксилоза [2, 7]. Высокая степень конверсии лигноцеллюлозного субстрата может быть достигнута при использовании эффективных и толерантных ферментов при отсутствии их необратимого связывания с лигнином и ингибирования конечным продуктом. Тем не менее использование потенциала ЛЦС является сложной задачей из-за нескольких факторов: физико-химических, структурных, композиционных, ограничивающих процесс переработки природных полисахаридов [2].

Предварительная обработка, ферментативный гидролиз и сбраживание сахаров являются основными этапами переработки лигноцеллюлозной биомассы в моносахара и последующие продукты биосинтеза. Среди них предварительная обработка и стоимость фермента (или ферментативного гидролиза) считаются основными центрами затрат [8, 9]. Коммерческие целлюлазные ферментные препараты (ФП) содержат ряд гидролитических ферментов, включая целюлазы, гемицеллюлазы, эндоглюканызы и литические полисахарид-

монооксигеназы, которые разрушают разнообразные связи между функциональными группами полимеров в составе ЛЦС. Синергическое действие ферментов усиливает гидролиз субстрата. Таким образом, разработка высокоэффективных и недорогих ФП для гидролиза лигноцеллюлозы является одной из основных исследовательских платформ в области переработки ЛЦС [1].

Получение ФП, имеющего в своем составе три компонента целлюлазы (эндоглюканызы, целлобиогидролазы и β -глюкозидазы) в правильной пропорции для полного гидролиза целлюлозосодержащих субстратов, представляется сложной задачей. Использование мультиэнзимных композиций для гидролиза ЛЦС является ключом к эффективному процессу. Для получения максимального гидролиза субстрата (более 70%) необходимо использовать сбалансированную композицию целлюлолитических ферментов, которая может увеличить скорость гидролиза и уменьшить количество необходимых ферментов, следовательно, и снизить общую стоимость производства моносахаров [10, 11]. Существует три основные причины для разработки мультиэнзимной композиции: уменьшение количества необходимых для гидролиза ферментов, преобразование всех углеводов субстрата в сбраживаемые сахара в течение короткого промежутка времени и необходимость гидролиза при высокой начальной концентрации субстрата [12]. Самый простой способ получения высокоэффективной мультиэнзимной композиции – смешивание двух или трех ФП, полученных из разных источников (в основном грибы и бактерии), которые различаются по количеству и типу целлюлолитических ферментов. Такое смешивание позволяет увеличить степень гидролиза лигноцеллюлозного субстрата при меньшей концентрации белка или уровне FPU. Например, β -глюкозидаза из разных источников имеет разное предпочтение к целлоолигосахаридам и целлобиозе: некоторые β -глюкозидазы эффективны для гидролиза целлоолигосахаридов от C2 до C6, в то время как другие эффективно гидролизуют только сахара C2 [8]. Иногда нецеллюлолитические ферменты действуют как отличное дополнение и снижают

количество требуемой целлюлазы, а также ускоряют разжижение биомассы при высокой начальной концентрации субстрата. Авторы работы [13] сообщают, что гидролиз жома сахарного тростника увеличился при добавлении ксиланаз к целлюлазе, что уменьшило расход последней на 20% при замене на 20% ксиланаз. Кроме того, ксиланазы увеличивают эффективность гидролиза как целлюлозы, так и гемицеллюлоз вследствие нарушения взаимодействия лигнина и ксилана и, соответственно, удаления ксиланового покрытия [2].

В представленном исследовании проводилась сравнительная оценка ферментных препаратов, полученных от разных производителей, и композиций на их основе при конверсии предварительно обработанной шелухи овса.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве сырья в работе использовали шелуху овса (*Avena Sativa*), которая была предоставлена ООО «Диарит» (г. Тамбов, Россия). Субстрат для ферментативного гидролиза получали предварительной обработкой шелухи овса 4%-м раствором азотной кислоты в течение 6 ч. Продукт после азотнокислой обработки шелухи овса высушивали на воздухе для анализа химического состава и дальнейшего ферментативного гидролиза. Для гидролиза использовали три ФП, полученные от разных производителей: «Агроцелл плюс» (ООО «Агрофермент», Россия), «Целлолюкс-А» (ООО ПО «Сиббиофарм», Россия), «Ультрафло Макс» (Novozymes A/S, Дания), «Агроцелл плюс» и «Целлолюкс-А» характеризуются производителями как комплексные ФП, обладающие целлюлазной, ксиланазной и β -глюканазной активностями. «Ультрафло Макс» – двухкомпонентная смесь β -глюканазы и ксиланазы. Продукты и активности ФП представлены в табл. 1.

Таблица 1. Характеристики ферментных препаратов

Table 1. Characteristics of enzymes

Наименование препарата	Продуцент	Ферментативная активность, ед/г
Агроцелл плюс	<i>Penicillium verruculosum</i>	Целлюлазная 4000
		β -Глюканазная 3000
		Ксиланазная 400
Целлолюкс-А	<i>Trichoderma viride (reesei)</i>	Целлюлазная 2000
		β -Глюканазная 1500
Ультрафло Макс	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Trichoderma reesei</i>	β -Глюканазная 700
		Ксиланазная 250

Влажность субстрата определяли на анализаторе влагосодержания MB 23 (Ohaus, США). Анализ химического состава субстрата проводили по общепринятым методам для анализа растительного сырья. Массовую долю целлюлозы по Кюршнеру определяли путем

экстракции смесью HNO_3 /спирт в соотношении 1:4 в течение 4 ч [14]. Массовую долю кислотонерастворимого лигнина оценивали в соответствии с методикой, описанной в TAPPI T 222¹. Массовую долю пентозанов определяли с использованием раствора орсина спектрофотометрическим способом на UNICO UV-2804 (United products and instruments, США)². Зольность оценивали путем сжигания образца в течение 3 ч при 600 °C³.

Исследование морфологии субстрата, а также непрореагировавших остатков после гидролиза проводилось методом растровой электронной микроскопии (РЭМ) с помощью прибора JSM-840 (Jeol, Япония) [15].

Сравнительную оценку гидролитических свойств ФП проводили на одном субстрате в идентичных условиях: загрузка твердых веществ 3%, скорость перемешивания 150 об/мин на горизонтальном перемешивающем устройстве ЭКРОС ПЭ-6410 («Экохим», Россия), температура (46±2) °C. Субстрат массой 4,5 г в пересчете на абсолютно сухое вещество вносили в коническую колбу объемом 0,5 л. Общий объем реакционной массы 0,15 л поддерживали добавлением 0,5 М ацетатного буфера (pH = 4,7). Для гидролиза продукта после азотнокислой обработки шелухи овса ФП использовали индивидуально, а также из них были составлены мультиэнзимные композиции, состав которых представлен в табл. 2 (опыты 4–7). ФП смешивали в массовом соотношении 1:1 (1:1:1) во всех возможных вариантах. Перед внесением ФП или композиции на их основе растворяли в ацетатном буфере. Процесс проводили при соотношении 20 мг фермента к 1 г субстрата или 0,6 мг фермента к 1 мл реакционной массы. Каждый эксперимент проводили в трех повторностях.

Таблица 2. Ферментные препараты и композиции на их основе

Table 2. Enzymes and compositions based on them

Номер опыта	Используемые ферментные препараты		
	Агроцелл плюс	Целлолюкс-А	Ультрафло Макс
1	+		
2		+	
3			+
4	+		+
5		+	+
6	+	+	
7	+	+	+

Через определенные промежутки времени отбирали пробы из гидролизатов, фильтровали и в фильтрате анализировали концентрации редуцирующих веществ (РВ) и глюкозы с помощью спектрофотометра Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, США). Концентрацию РВ определяли в пересчете на глюкозу с использованием реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты (Panreac, Испания) [16]. Концентрацию глюкозы определяли глюкозооксидазно-пероксидазным методом с помощью

¹TAPPI T 222 om-02. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. Atlanta: TAPPI Press, 2002.

²Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы: учеб. пособие. М.: Экология, 1991. 319 с.

³TAPPI T 211 om-85. Ash in wood, pulp, paper, and paperboard. Atlanta: TAPPI Press, 1985.

реактивов из набора «Фотоглюкоза» (ООО «Импакт», Россия) [17]. Через 72 ч гидролиза суспензию фильтровали под вакуумом, в фильтрате анализировали концентрации РВ и глюкозы. По результатам анализа рассчитывались конечный выход РВ от массы субстрата (1) и гидролизуемых компонентов (2), а также выход глюкозы от массы субстрата (1) и целлюлозы (3) по формулам:

$$\eta_c = \frac{C_K \times V}{m_c} \times 0,9 \times 100, \quad (1)$$

$$\eta_{ГК} = \frac{C_K \times V}{m_c \cdot (100 - Л - З)} \times 0,9 \times 100, \quad (2)$$

$$\eta_{Ц} = \frac{C_K \times V}{m_c \times Ц} \times 0,9 \times 100, \quad (3)$$

где η_c – выход РВ (глюкозы) от массы субстрата, %; $\eta_{ГК}$ – выход РВ от содержания гидролизуемых компонентов в субстрате, %; $\eta_{Ц}$ – выход глюкозы от содержания целлюлозы в субстрате, %; C_K – конечная концентрация РВ (глюкозы) в гидролизате, г/л; V – объем гидролизата, л; 0,90 – коэффициент, обусловленный присоединением молекулы воды к ангидроглюкозным остаткам соответствующих мономерных звеньев в результате ферментативного гидролиза; m_c – масса субстрата для ферментативного гидролиза, г; $Л$ – массовая доля остаточного лигнина в субстрате, %; $З$ – массовая доля золы в субстрате, %; $Ц$ – массовая доля целлюлозы в субстрате, %.

Работа была выполнена с использованием приборной базы Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Химический состав шелухи овса и продукта после ее азотнокислой обработки приведен в табл. 3. Содержание целлюлозы после предварительной обработки увеличилось на 25% по сравнению с исходным сырьем. Практически все гемицеллюлозы гидролизовались в процессе обработки, что привело к уменьшению их массовой доли на 24%. При этом массовая доля лигнина в субстрате после обработки значительно не умень-

шилась и составила 17,1%, что всего на 4,6% ниже, чем в исходной шелухе овса.

Таблица 3. Химический состав шелухи овса до и после обработки разбавленным раствором азотной кислоты

Table 3. Chemical composition of oat hulls before and after treatment with a dilute nitric acid solution

Показатель	Шелуха овса	Продукт после азотнокислой обработки
Массовая доля целлюлозы, %	40,8±0,4	66,1±0,4
Массовая доля пентозанов, %	31,0±0,1	6,8±0,1
Массовая доля кислотонерастворимого лигнина, %	21,7±0,1	17,1±0,1
Массовая доля золы, %	5,5±0,01	9,7±0,01

Далее проводили сравнительную оценку ФП и композиций на их основе для конверсии предварительно обработанной шелухи овса. В табл. 4 приведены характеристики гидролизатов через 72 ч.

На основе сравнения эффективности индивидуальных ФП установлено (см. табл. 4, опыты № 1–3), что максимальная степень конверсии субстрата наблюдается при использовании ФП «Агроцелл плюс» и «Ультрафло Макс»: выход РВ в обоих случаях в 1,3 раза выше, чем при гидролизе с использованием ФП «Целлолюкс-А». «Агроцелл плюс» характеризуется максимальными активностями (см. табл. 1), что и объясняет полученные результаты (выход РВ от массы субстрата – 53%). Неожиданно высокая степень конверсии субстрата демонстрируется при использовании «Ультрафло Макс» (выход РВ от массы субстрата – 51%), так как препарат позиционируется как β -глюканаза. Это объясняется тем, что помимо ферментов, заявленных в паспорте (β -глюканаза и ксиланаза), препарат дополнительно обладает достаточно высокой целлюлазной активностью.

Использование индивидуальных ФП с различным содержанием гидролитических ферментов позволяет достичь 54–72% конверсии доступной части субстрата

Таблица 4. Характеристики гидролизатов через 72 ч

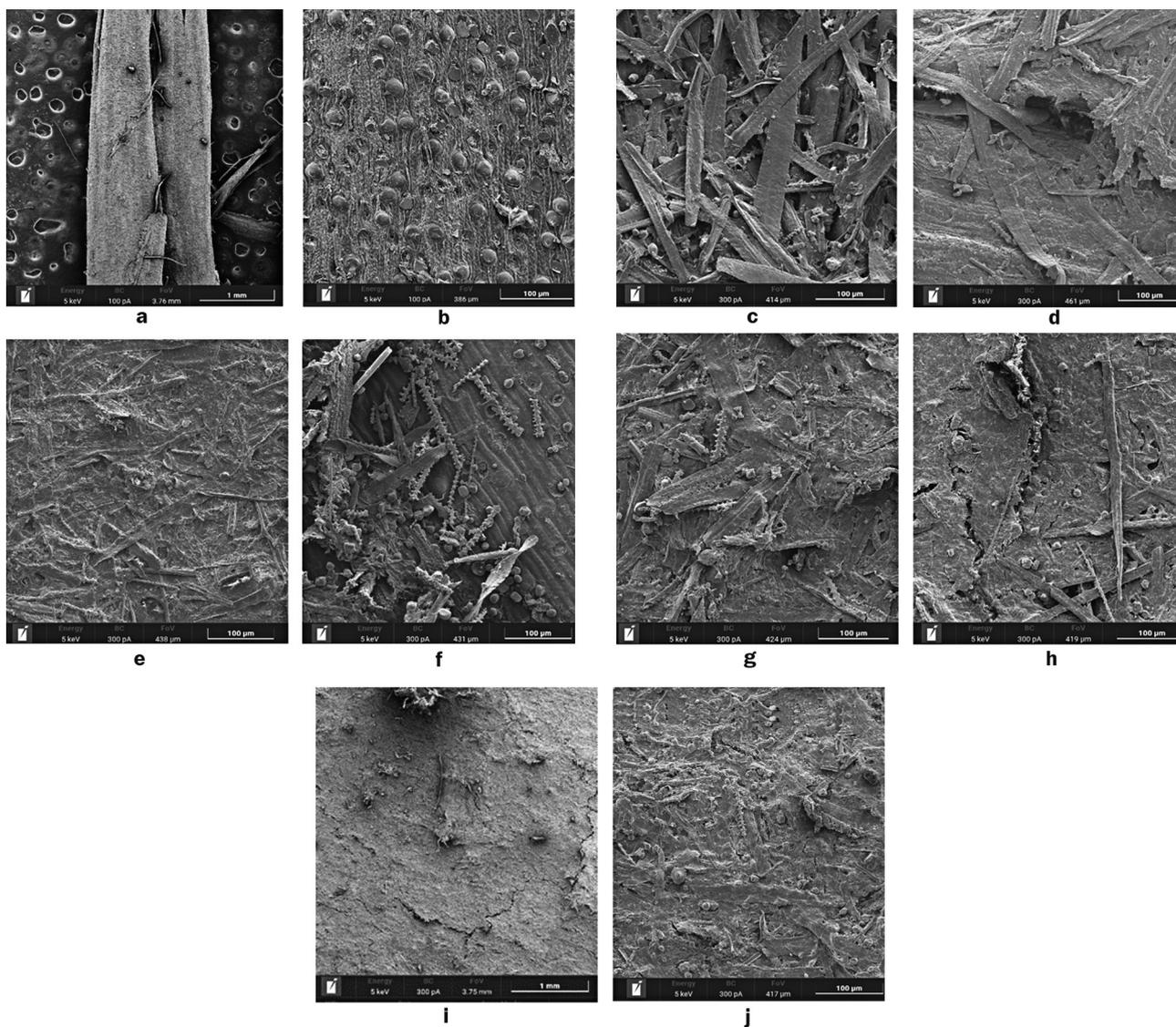
Table 4. Characteristics of hydrolysates after 72 hours of hydrolysis

Характеристика гидролизата	Номер опыта						
	1	2	3	4	5	6	7
Редуцирующие вещества:							
концентрация, г/л	17,6±0,5	13,2±0,5	16,9±0,5	23,7±0,5	19,3±0,5	23,6±0,5	24,1±0,5
выход от массы субстрата, %	53±2	40±2	51±2	71±2	58±2	71±2	72±2
выход от содержания гидролизуемых компонентов, %	72±2	54±2	69±2	97±2	79±2	97±2	99±2
Глюкоза:							
концентрация, г/л	15,5±0,8	11,9±0,8	14,4±0,8	21,2±0,8	16,9±0,8	20,9±0,8	22,0±0,8
выход от массы субстрата, %	46±3	36±3	43±3	64±3	51±3	63±3	66±3
выход от содержания целлюлозы, %	70±3	54±3	65±3	96±3	77±3	95±3	100±3
Концентрация пентоз, г/л	1,9±0,2	1,7±0,2	2,0±0,2	2,3±0,2	1,7±0,2	2,2±0,2	2,3±0,2

(целлюлоза и гемицеллюлозы), что демонстрирует необходимость использования композиций на основе этих препаратов (см. табл. 4, опыты № 4–7). Добавление к ФП «Агроцелл Плюс» и «Целлолюкс-А», обладающим высокой целлюлазной активностью, дополнительной β -глюканазы («Ультрафло Макс») приводит к увеличению выхода РВ в пересчете на массу субстрата в случае «Агроцелл плюс» в 1,3 раза, в случае «Целлолюкс-А» в 1,5 раза.

Смешивание ФП «Агроцелл плюс» с «Целлолюкс-А» или «Ультрафло Макс» приводит к практически полному гидролизу доступной части субстрата в опытах № 4 и 6 соответственно: выход РВ от массовой доли гидролизуемых компонентов в обоих случаях составил 97%. Это

свидетельствует о том, что ферментативная система препарата «Агроцелл плюс» является основной, а два других фермента усиливают ее действие [2]. Максимальный выход РВ (72% от массы субстрата) наблюдается при ферментативном гидролизе композицией из трех ФП (опыт № 7). Смешивание трех ФП, полученных из разных источников, позволяет получить мультиэнзимную композицию, которая гидролизует всю доступную часть субстрата: выход РВ от массовой доли гидролизуемых компонентов составил 99%. Это объясняется тем, что ФП, имеющие в составе одни и те же ферменты, но разное происхождение, работают синергически, усиливая положительные характеристики друг друга и тем самым увеличивая эффективность гидролиза [8]. Исполь-



Сделанное при помощи растрового электронного микроскопа фото продукта после азотной обработки шелухи овса и остатков после его ферментативного гидролиза различными ферментными препаратами: а – субстрат ($\times 50$); б – субстрат ($\times 500$); в – опыт № 1 ($\times 500$); д – опыт № 2 ($\times 500$); е – опыт № 3 ($\times 500$); ф – опыт № 4 ($\times 500$); г – опыт № 5 ($\times 500$); х – опыт № 6 ($\times 500$); и – опыт № 7 ($\times 50$); ж – опыт № 7 ($\times 500$)

Scanning electron microscope photo of the product after nitric acid treatment of oat hulls and residues after its enzymatic hydrolysis with various enzymes: а – substrate ($\times 50$); б – substrate ($\times 500$); в – experiment no. 1 ($\times 500$); д – experiment no. 2 ($\times 500$); е – experiment no. 3 ($\times 500$); ф – experiment no. 4 ($\times 500$); г – experiment no. 5 ($\times 500$); х – experiment no. 6 ($\times 500$); и – experiment no. 7 ($\times 50$); ж – experiment no. 7 ($\times 500$)

зование мультиэнзимных композиций с превосходной каталитической активностью является единственным решением для обеспечения стабильности в практическом биокатализе [18].

Концентрация глюкозы и ксилозы позволяет характеризовать полученные гидролизаты как глюкозные: вклад глюкозы в общую концентрацию РВ составил 85–91%, вклад пентоз – 9–12%.

Результаты исследования РЭМ субстрата до и после гидролиза (рисунок) позволили получить удивительные сведения о превращениях лигноцеллюлозных частиц при воздействии ферментов, особенно при сравнении воздействия индивидуальных ферментов и композиций на их основе.

Субстрат при увеличении в 50 и 500 раз (см. рисунок) представляет собой крупные плоские волокна разного размера и фибриллы с толщиной в диапазоне 0,02–0,20 мкм. Крупные волокна имеют неровную поверхность, на которой можно рассмотреть петельчатые участки, трещины, поры и выпуклости правильной формы. Можно предположить, что выпуклости являются кремневыми образованиями, которые проявились в процессе азотнокислой обработки шелухи овса. Форма волокон обусловлена особой морфологией тонких чешуек лигноцеллюлозы, многослойно покрывающих зерно для защиты от атмосферных осадков. Специфичность формы волокон субстрата не позволяет сравнить полученные результаты РЭМ с опубликованными данными в связи с их отсутствием. Известно, что неоднородность поверхности, а именно наличие на волокнах шероховатостей и пор, способствует более быстрому проникновению целлюлаз внутрь субстрата [19].

После гидролиза ФП «Агроцелл плюс» (опыт № 1) цельный субстрат фрагментируется в более мелкие плоские волокна лентообразной формы с неровными краями шириной 10–40 мкм и длиной 200–700 мкм. Фрагментация частиц субстрата сопровождается высвобождением кремневых образований в виде шаров неправильной формы диаметром 10–20 мкм и гребенчатых структур с зазубренными краями шириной 2–10 мкм и длиной до 100 мкм. Появление кремневых образований обосновано накоплением в твердой фазе лигнина и золы, поскольку в процессе гидролиза целлюлоза и гемицеллюлозы переходят в жидкую фазу в виде глюкозы, целлобиозы и растворимых олигосахаридов. Подобные явления визуализации процесса ферментативного гидролиза, а именно высвобождение отдельных частиц из цельного субстрата при действии ферментов, описаны авторами работ [20, 21].

В отличие от опыта № 1 остаток субстрата после гидролиза ФП «Целлолюкс-А» (опыт № 2) фрагментировался в меньшей степени, поскольку наблюдаются более крупные волокна с гипертерифицированной поверхностью после воздействия фермента только по поверхности субстрата. Наличие лентообразных волокон и мелких частиц двух различных форм (шары неправильной формы и гребенчатые структуры) подтверждают поверхностный характер воздействия ферментов. После гидролиза ФП «Ультрафло Макс» (опыт № 3) субстрат претерпел более эффективную фрагментацию с образованием очень мелких частиц, среди которых с трудом, но можно идентифицировать волокна различной длины и формы (присутствуют и трубки), лежащие плотным слоем. Сравнение

микрофотографий остатков субстрата после гидролиза индивидуальными ФП показывает различную степень воздействия ферментов, причем результаты в опыте № 2 уступают результатам опытов № 1 и 3.

Гидролиз композицией из ФП «Агроцелл плюс» и «Ультрафло Макс» (опыт № 4) превращает субстрат в удивительное многообразие форм частиц, среди которых плоские закрученные ленты, трубки, шарообразные и гребенчатые кремневые образования присутствуют примерно в равных долях, что подтверждает максимальную из представленных выше опытов фрагментацию. Необходимо подчеркнуть, что наличие в композиции ФП «Ультрафло Макс», аналогично опыту № 3, приводит к образованию в остатке субстрата трубчатых волокон, а также впервые наблюдаются отверстия в плоских волокнах и значительная деформация краев этих волокон.

В сравнении с предыдущим опытом композиция из ФП «Агроцелл плюс» и «Целлолюкс-А» (опыт № 5) гораздо слабее воздействует на субстрат, потому что в остатке наблюдаются исключительно крупные волокна, но размер частиц свидетельствует о более эффективной фрагментации, чем в опытах с индивидуальными ФП. Значительное улучшение в сравнении с опытом № 5 наблюдается при воздействии на субстрат композиции из ФП «Целлолюкс-А» и «Ультрафло Макс» (опыт № 6), поскольку остатки частиц сложно идентифицировать и они образуют плотный слой высушенной взвеси.

Использование композиции из трех ФП (опыт № 7) приводит к практически полному гидролизу доступной части субстрата, в результате которого остается однородная аморфная масса из очень мелких частиц различной формы, среди которых при увеличении можно рассмотреть шары неправильной формы и гребенчатые структуры, характерные для кремневых образований. Это явление понятно, поскольку минеральные компоненты, которые не гидролизуются, должны накапливаться в процессе ферментативного гидролиза в твердом остатке. В связи с этим идея получения биогенного кремнезема через ферментативный гидролиз целлюлозосодержащего сырья и сжигание остатка субстрата по-прежнему остается актуальной [22, 23]. Поскольку ценность биогенного кремнезема многократно доказана [24, 25], применение мультиэнзимных композиций в гидролизе предобработанной шелухи овса позволяет кроме глюкозного гидролизата с концентрацией 22 г/л получить еще один полезный продукт – аморфный оксид кремния.

Обобщая результаты визуализации гидролиза, необходимо отметить, что в большинстве случаев остатки субстрата после гидролиза представлены неупорядоченной смесью мелких частей волокон и кремневых образований. При использовании индивидуальных ФП в остатках присутствуют более крупные части волокон, а при использовании мультиэнзимных композиций остаток представлен аморфной массой только из мелких частей волокон и кремневых образований – тем самым подтверждается эффективность использования композиций ФП. По результатам анализа опубликованных данных визуализации ферментативного гидролиза примеры воздействия композиций ФП на субстраты ранее не были описаны. Полученные в данных исследованиях результаты хорошо согласуются с высокими значениями

выходов РВ от массы субстрата и гидролизуемых компонентов для опытов № 4, 6 и 7.

Логическим продолжением данных исследований является масштабирование ферментативного гидролиза и использование более высоких начальных концентраций субстрата, поскольку известно, что выход РВ находится в обратной зависимости от концентрации субстрата. Например, авторы исследования [26] смогли получить выход РВ от массы субстрата всего 14% при начальной концентрации предварительно обработанной гидроксидом натрия лузги подсолнечника 200 г/л, несмотря на применение композиции из четырех ФП: «Целлюлоза-А», «β-Глюканаза-Ц/А», «Целлюлаза», «Ксиланаза». Возможность получения других ценных продуктов, кроме глюкозного гидролизата, таких как аморфный диоксид кремния, может оправдать снижение выхода целевой глюкозы при использовании высокоэффективной мультиэнзимной композиции в промышленном биокатализе.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Tuan L., Anne-Archard D., Cameleyre X., Lombard E., To K.A., Pham T.A., et al. Rheological investigation of complex lignocellulosic suspensions during hydrolysis using pure and cocktail of enzymes // *Bioresource Technology*. 2025. Vol. 426. P. 132333. DOI: 10.1016/j.biortech.2025.132333.
2. Moya E.B., Syhler B., Dragone G., Mussatto S.I. Tailoring a cellulolytic enzyme cocktail for efficient hydrolysis of mildly pretreated lignocellulosic biomass // *Enzyme and Microbial Technology*. 2024. Vol. 175. P. 110403. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2024.110403.
3. Yamakawa C.K., Qin F., Mussatto S.I. Advances and opportunities in biomass conversion technologies and biorefineries for the development of a bio-based economy // *Biomass and Bioenergy*. 2018. Vol. 119. P. 54–60. DOI: 10.1016/j.biombioe.2018.09.007.
4. Liang C., Long Y., Wang W., Zhang Y., Xing S., Chen Z., et al. Correlation and synergy between fungal secretome cellulolytic enzyme cocktails and commercial cellulase for woody biomass degradation // *Renewable Energy*. 2025. Vol. 240. P. 122158. DOI: 10.1016/j.renene.2024.122158.
5. Semenova M.V., Rozhkova A.M., Osipov D.O., Telitsin V.D., Rubtsova E.A., Kondrat'eva E.G., et al. Methods for preprocessing reeds to obtain enzymatic hydrolysates with a high sugar content // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2024. Vol. 60. P. 931–941. DOI: 10.1134/S0003683824604736.
6. Mankar A.R., Pandey A., Modak A., Pant K.K. Pretreatment of lignocellulosic biomass: a review on recent advances // *Bioresource Technology*. 2021. Vol. 334. P. 125235. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.125235.
7. Петухова О.С., Приставка А.А., Приставка Е.А., Гавриков Д.Е., Саловарова В.П. Сравнительный анализ структурно-функциональных особенностей эндоглюканаза с разным температурным оптимумом действия // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2024. Т. 14. N 4. С. 596–604. DOI: 10.21285/achb.946. EDN: SRPVFQ.
8. Adsul M., Sandhu S.K., Singhanian R.R., Gupta R., Puri S.K., Mathur A. Designing a cellulolytic enzyme cocktail for the efficient and economical conversion of lignocellulosic biomass to biofuels // *Enzyme and Microbial Technology*. 2020. Vol. 133. P. 109442. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2019.109442.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате сравнительной оценки ФП для конверсии преобработанной шелухи овса установлено, что можно максимизировать высвобождение РВ до 97–99% в процессе гидролиза путем использования мультиэнзимных композиций. По сравнению с результатами, полученными при использовании индивидуальных ФП, применение композиций привело к увеличению эффективности гидролиза на 19–32% в случае РВ и на 20–30% в случае глюкозы. Полученные гидролизаты характеризуются как преимущественно глюкозные (вклад глюкозы – 85–91%), что подтверждает возможность их дальнейшего использования для получения продуктов биосинтеза с высокой добавленной стоимостью. Результаты РЭМ остатков субстрата после ферментативного гидролиза визуализируют высокую эффективность композиций на основе ФП.

9. Agrawal R., Satlewal A., Gaur R., Mathur A., Kumar R., Gupta R.P., et al. Pilot scale pretreatment of wheat straw and comparative evaluation of commercial enzyme preparations for biomass saccharification and fermentation // *Biochemical Engineering Journal*. 2015. Vol. 102. P. 54–61. DOI: 10.1016/J.BEJ.2015.02.018.
10. Soleimani S., Ranaei-Siadat S.-O., Preparation and optimization of cellulose cocktail to improve the bioethanol process // *Biofuels*. 2017. Vol. 8, no. 2. P. 291–296. DOI: 10.1080/17597269.2016.1224293.
11. Shevchenko A.R., Mayorova K.A., Chukhchin D.G., Malkov A.V., Toptunov E.A., Telitsin V. D., et al. Enzymatic hydrolysis of kraft and sulfite pulps: what is the best cellulosic substrate for industrial saccharification? // *Fermentation*. 2023. Vol. 9, no. 11. P. 936. DOI: 10.3390/fermentation9110936.
12. Серба Е.М., Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И., Медриш М.Э., Павлова А.А. [и др.]. Подбор мультиэнзимной композиции и условий подготовки концентрированного зернового сула // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2021. Т. 11. N 3. С. 384–392. DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-3-384-392. EDN: YEILZV.
13. Li J., Zhou P., Liu H., Xiong C., Lin J., Xiao W., et al. Synergism of cellulase, xylanase, and pectinase on hydrolyzing sugarcane bagasse resulting from different pretreatment technologies // *Bioresource Technology*. 2014. Vol. 155. P. 258–265. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.12.113.
14. Kurschner K., Hoffer A. Cellulose and cellulose derivative // *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. 1993. Vol. 92. P. 145–154.
15. Pavlov I.N. A setup for studying the biocatalytic conversion of products from the processing of nonwood raw materials // *Catalysis in Industry*. 2014. Vol. 6. P. 355–360. DOI: 10.1134/S207005041404014X.
16. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar // *Analytical Chemistry*. 1959. Vol. 31, no. 3. P. 426–428. DOI: 10.1021/ac60147a030.
17. Dotsenko A., Gusakov A., Rozhkova A., Sinitsyna O., Shashkov I., Sinitsyn A. Enzymatic hydrolysis of cellulosic materials using synthetic mixtures of purified cellulases bioengineered at N-glycosylation sites // *3 Biotech*. 2018. Vol. 8. P. 396. DOI: 10.1007/s13205-018-1419-4.

18. Shi J., Wu Y., Zhang S., Tian Y., Yang D., Jiang Z. Bio-inspired construction of multi-enzyme catalytic systems // *Chemical Society Reviews*. 2018. Vol. 47, no. 12. P. 4295–4313. DOI: 10.1039/C7CS00914C.

19. Rohrbach J.C., Luterbacher J.S. Investigating the effects of substrate morphology and experimental conditions on the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass through modeling // *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*. 2021. Vol. 14. P. 103. DOI: 10.1186/s13068-021-01920-2.

20. Schläfle S., Tervahartiala T., Senn T., Kölling-Paternoga R. Quantitative and visual analysis of enzymatic lignocellulose degradation // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2017. Vol. 11. P. 42–49. DOI: 10.1016/j.bcab.2017.06.002.

21. Zeng M., Mosier N.S., Huang C.-P., Sherman D.M., Ladisch M.R. Microscopic examination of changes of plant cell structure in corn stover due to hot water pretreatment and enzymatic hydrolysis // *Biotechnology and Bioengineering*. 2007. Vol. 97, no. 2. P. 265–278. DOI: 10.1002/bit.21298.

22. Земнухова Л.А., Скиба Е.А., Будаева В.В., Панасенко А.Е., Полякова Н.В. Состав неорганических компонентов шелухи овса и продуктов ее химической и

ферментативной трансформации // *Журнал прикладной химии*. 2018. Т. 91. N 2. С. 217–221. EDN: YRVLZF.

23. Kaur P., Singh S., Sharma N., Agrawal R. Filling in the gaps in second-generation biorefineries: evaluating rice straw and its bioethanol residue for the production of biogenic silica nanoparticles // *Nanotechnology for Environmental Engineering*. 2024. Vol. 9. P. 67–76. DOI: 10.1007/s41204-023-00351-8.

24. Zemnukhova L.A., Egorov A.G., Fedorishcheva G.A., Barinov N.N., Sokol’Nitskaya T.A., Botsul A.I. Properties of amorphous silica produced from rice and oat processing waste // *Inorganic Materials*. 2006. Vol. 42. P. 24–29. DOI: 10.1134/S0020168506010067.

25. Prempeh C.O., Formann S., Schliermann T., Dizaji H.B., Nelles M. Extraction and characterization of biogenic silica obtained from selected agro-waste in Africa // *Applied Sciences*. 2021. Vol. 11, no. 21. P. 10363. DOI: 10.3390/app112110363.

26. Вистовская В.П., Кожемякин Д.С., Каменская Е.П. Оптимизация параметров ферментализации подсолнечной лузги с использованием методов математического моделирования // *Ползуновский вестник*. 2025. N 1. С. 103–109. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2025.01.012. EDN: USIKBN.

REFERENCES

1. Tuan L., Anne-Archard D., Cameleyre X., Lombard E., To K.A., Pham T.A., et al. Rheological investigation of complex lignocellulosic suspensions during hydrolysis using pure and cocktail of enzymes. *Bioresource Technology*. 2025;426:132333. DOI: 10.1016/j.biortech.2025.132333.

2. Moya E.B., Syhler B., Dragone G., Mussatto S.I. Tailoring a cellulolytic enzyme cocktail for efficient hydrolysis of mildly pretreated lignocellulosic biomass. *Enzyme and Microbial Technology*. 2024;175:110403. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2024.110403.

3. Yamakawa C.K., Qin F., Mussatto S.I. Advances and opportunities in biomass conversion technologies and biorefineries for the development of a bio-based economy. *Biomass and Bioenergy*. 2018;119:54–60. DOI: 10.1016/j.biombioe.2018.09.007.

4. Liang C., Long Y., Wang W., Zhang Y., Xing S., Chen Z., et al. Correlation and synergy between fungal secretome cellulolytic enzyme cocktails and commercial cellulase for woody biomass degradation. *Renewable Energy*. 2025;240:122158. DOI: 10.1016/j.renene.2024.122158.

5. Semenova M.V., Rozhkova A.M., Osipov D.O., Telitsin V.D., Rubtsova E.A., Kondrat’eva E.G., et al. Methods for preprocessing reeds to obtain enzymatic hydrolysates with a high sugar content. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2024;60:931–941. DOI: 10.1134/S0003683824604736.

6. Mankar A.R., Pandey A., Modak A., Pant K.K. Pretreatment of lignocellulosic biomass: a review on recent advances. *Bioresource Technology*. 2021;334:125235. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.125235.

7. Petukhova O.S., Pristavka A.A., Pristavka E.A., Gavrikov D.E., Salovarova V.P. Comparative analysis of the structural and functional features of endoglucanases with different temperature optima. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(4):596–604. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.946. EDN: SRPVFQ.

8. Adsul M., Sandhu S.K., Singhania R.R., Gupta R., Puri S.K., Mathur A. Designing a cellulolytic enzyme cocktail

for the efficient and economical conversion of lignocellulosic biomass to biofuels. *Enzyme and Microbial Technology*. 2020;133:109442. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2019.109442.

9. Agrawal R., Satlewal A., Gaur R., Mathur A., Kumar R., Gupta R.P., et al. Pilot scale pretreatment of wheat straw and comparative evaluation of commercial enzyme preparations for biomass saccharification and fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 2015;102:54–61. DOI: 10.1016/J.BEJ.2015.02.018.

10. Soleimani S., Ranaei-Siadat S.-O., Preparation and optimization of cellulose cocktail to improve the bioethanol process. *Biofuels*. 2017;8(2):291–296. DOI: 10.1080/17597269.2016.1224293.

11. Shevchenko A.R., Mayorova K.A., Chukhchin D.G., Malkov A.V., Toptunov E.A., Telitsin V. D., et al. Enzymatic hydrolysis of kraft and sulfite pulps: what is the best cellulosic substrate for industrial saccharification? *Fermentation*. 2023;9(11):936. DOI: 10.3390/fermentation9110936.

12. Serba E.M., Rimareva L.V., Overchenko M.B., Ignatova N.I., Medrish M.E., Pavlova A.A., et al. Selecting multi-enzyme composition and preparation conditions for strong wort. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021;11(3):384–392. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-3-384-392. EDN: YEIIZV.

13. Li J., Zhou P., Liu H., Xiong C., Lin J., Xiao W., et al. Synergism of cellulase, xylanase, and pectinase on hydrolyzing sugarcane bagasse resulting from different pretreatment technologies. *Bioresource Technology*. 2014;155:258–265. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.12.113.

14. Kurschner K., Hoffer A. Cellulose and cellulose derivative. *Fresenius’ Journal of Analytical Chemistry*. 1993;92:145–154.

15. Pavlov I.N. A setup for studying the biocatalytic conversion of products from the processing of nonwood raw materials. *Catalysis in Industry*. 2014;6:355–360. DOI: 10.1134/S207005041404014X.

16. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 1959;31(3):426-428. DOI: 10.1021/ac60147a030.

17. Dotsenko A., Gusakov A., Rozhkova A., Sinityna O., Shashkov I., Sinityn A. Enzymatic hydrolysis of cellulosic materials using synthetic mixtures of purified cellulases bio-engineered at N-glycosylation sites. *3 Biotech*. 2018;8:396. DOI: 10.1007/s13205-018-1419-4.

18. Shi J., Wu Y., Zhang S., Tian Y., Yang D., Jiang Z. Bioinspired construction of multi-enzyme catalytic systems. *Chemical Society Reviews*. 2018;47(12):4295-4313. DOI: 10.1039/C7CS00914C.

19. Rohrbach J.C., Luterbacher J.S. Investigating the effects of substrate morphology and experimental conditions on the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass through modeling. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*. 2021;14:103. DOI: 10.1186/s13068-021-01920-2.

20. Schläfle S., Tervahartiala T., Senn T., Kölling-Paternoga R. Quantitative and visual analysis of enzymatic lignocellulose degradation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2017;11:42-49. DOI: 10.1016/j.bcab.2017.06.002.

21. Zeng M., Mosier N.S., Huang C.-P., Sherman D.M., Ladisch M.R. Microscopic examination of changes of plant cell structure in corn stover due to hot water pretreatment and enzymatic hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering*. 2007;97(2):265-278. DOI: 10.1002/bit.21298.

22. Zemnukhova L.A., Panasenko A.E., Polyakova N.V., Skiba E.A., Budaeva V.V. Composition of inorganic components of oat husks and products of their chemical and enzymatic transformation. *Zhurnal prikladnoi khimii*. 2018;91(2):217-221. (In Russian). EDN: YRVLZF.

23. Kaur P., Singh S., Sharma N., Agrawal R. Filling in the gaps in second-generation biorefineries: evaluating rice straw and its bioethanol residue for the production of biogenic silica nanoparticles. *Nanotechnology for Environmental Engineering*. 2024;9:67-76. DOI: 10.1007/s41204-023-00351-8.

24. Zemnukhova L.A., Egorov A.G., Fedorishcheva G.A., Barinov N.N., Sokol'Nitskaya T.A., Botsul A.I. Properties of amorphous silica produced from rice and oat processing waste. *Inorganic Materials*. 2006;42:24-29. DOI: 10.1134/S0020168506010067.

25. Prempeh C.O., Formann S., Schliermann T., Dizaji H.B., Nelles M. Extraction and characterization of biogenic silica obtained from selected agro-waste in Africa. *Applied Sciences*. 2021;11(21):10363. DOI: 10.3390/app112110363.

26. Vistovskaya V.P., Kozhemyakin D.S., Kamenskaya E.P. Optimization of sunflower husk enzymolysis parameters through use of mathematical modeling methods. *Polzunovskiy vestnik*. 2025;1:103-109. (In Russian). DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2025.01.012. EDN: USIKBN.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Кашеева Екатерина Ивановна,

к.т.н., старший научный сотрудник,
Институт проблем химико-энергетических
технологий СО РАН,
659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1,
Российская Федерация,
✉ massl@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1593-7982>

Будаева Вера Владимировна,

к.х.н., доцент, заведующий лабораторией,
ведущий научный сотрудник,
Институт проблем химико-энергетических
технологий СО РАН,
659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1,
Российская Федерация,
budaeva@ipcet.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1628-0815>

Золотухин Владимир Николаевич,

к.т.н., старший научный сотрудник,
Институт проблем химико-энергетических
технологий СО РАН,
659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1,
Российская Федерация,
zolotukhin_vn@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9630-6332>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina I. Kashcheyeva,

Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher,
Institute for Problems of Chemical
and Energetic Technologies, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
1, Sotsialisticheskaya St., Biysk, 659322,
Russian Federation,
✉ massl@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1593-7982>

Vera V. Budaeva,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Head of the Laboratory, Leading Researcher,
Institute for Problems of Chemical
and Energetic Technologies, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
1, Sotsialisticheskaya St., Biysk, 659322,
Russian Federation,
budaeva@ipcet.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1628-0815>

Vladimir N. Zolotukhin,

Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher,
Institute for Problems of Chemical
and Energetic Technologies, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
1, Sotsialisticheskaya St., Biysk, 659322,
Russian Federation,
zolotukhin_vn@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9630-6332>

Вклад авторов

Е.И. Кашеева – разработка концепции, проведение исследования, валидация результатов, визуализация, написание черновика рукописи.
В.В. Будаева – курирование данных, получение финансирования, административное руководство исследовательским проектом, научное руководство, редактирование рукописи.
В.Н. Золотухин – разработка методологии, проведение исследования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 03.04.2025.
Одобрена после рецензирования 09.09.2025.
Принята к публикации 15.09.2025.

Contribution of the authors

Ekaterina I. Kashcheyeva – conceptualization, investigation, validation, visualization, writing – original draft.
Vera V. Budaeva – data curation, funding acquisition, project administration, supervision, editing.
Vladimir N. Zolotukhin – methodology, investigation.

Conflict of interest

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 03.04.2025.
Approved after reviewing 09.09.2025.
Accepted for publication 15.09.2025.

Научная статья
УДК 591.13:636.92+577.11
EDN: UNUPYQ
DOI: 10.21285/achb.991



Экстракт из отработанного соломенного субстрата вешенки – состав, регуляторная и протекторная активность в отношении прорастающих семян пшеницы

С.С. Тарасов✉, Е.В. Михалев, Е.К. Крутова

Нижегородский государственный агротехнологический университет,
Нижний Новгород, Российская Федерация

Аннотация. Целью проведенного исследования являлось изучение биохимического состава экстракта из отработанного соломенного субстрата вешенки обыкновенной штамма НК-35 (далее – экстракт), а также его регуляторных и протекторных свойств. В составе экстракта выявлено содержание основных органоминеральных компонентов, в том числе массовая доля сухого вещества составила около 2%, из них органическое вещество занимало более 1,5%, зола – менее 0,5%. рН экстракта был слабощелочным. Основными органическими компонентами являлись белки, углеводы (преимущественно редуцирующие сахара) и гуминовые вещества. Калий, кальций и фосфор были наиболее представленными химическими элементами в составе золы. Применение 10%-го экстракта усиливало прорастание семян пшеницы, а использование 100%-го экстракта, напротив, ингибировало их прорастание. Применение 10%-го экстракта усиливало активность супероксиддисмутазы и экспрессию одного из генов *SOD-1*, не влияло на активность каталазы и содержание транскриптов исследованных генов *CAT* и *POD*, но подавляло активность пероксидазы. Культивирование семян с применением 100%-го экстракта не повлияло на активность супероксиддисмутазы, каталазы и содержание транскриптов исследованных генов, но подавляло активность пероксидазы и экспрессию изученного гена *POD*. В условиях культуры на питательных средах с добавлением 10%-го экстракта масса мицелия *Aspergillus niger* была меньше более чем в 6 раз, а радиус колоний уменьшался почти в 8 раз. У *Alternaria alternata* масса была меньше более чем в 7 раз, а радиус колонии был меньше почти в 15 раз относительно контроля.

Ключевые слова: регуляторы роста и развития, экстракт грибов, вешенка, элиситоры, скорость прорастания семян, антиоксидантная система, экспрессия генов, фитопатогены

Для цитирования: Тарасов С.С., Михалев Е.В., Крутова Е.К. Экстракт из отработанного соломенного субстрата вешенки – состав, регуляторная и протекторная активность в отношении прорастающих семян пшеницы // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 357–369. DOI: 10.21285/achb.991. EDN: UNUPYQ.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Extract from spent oyster mushroom substrate: Composition, and regulatory and protective activity on germinating wheat seeds

Sergei S. Tarasov✉, Evgeny V. Mikhalev, Elena K. Krutova

Nizhny Novgorod State Agrotechnological University, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. This study examines the biochemical composition of an aqueous extract from the spent mushroom substrate of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* strain НК-35) and investigates its regulatory and protective properties. The

© Тарасов С.С., Михалев Е.В., Крутова Е.К., 2025

major organomineral components of the extract included approximately 2% dry matter, comprising over 1.5% organic matter and less than 0.5% ash. The extract had a mildly alkaline pH. Primary organic components included proteins, carbohydrates (predominantly reducing sugars), and humic substances, with potassium, calcium, and phosphorus being the most abundant elements. In germination assays, a 10% extract enhanced wheat seed germination, whereas a 100% extract inhibited it. The 10% extract also enhanced superoxide dismutase activity and the expression of the SOD-1 gene and suppressed peroxidase activity. This treatment had no effect on catalase activity or the transcript levels of the studied CAT and POD genes. In contrast, the 100% extract suppressed peroxidase activity and gene expression; however, it had no effect on superoxide dismutase or catalase activity or their related gene transcripts. In antifungal assays, the 10% extract significantly inhibited the growth of phytopathogens *in vitro*. The mycelial mass of *Aspergillus niger* was reduced by more than 6-fold and its colony radius by almost 8-fold, while for *Alternaria alternata*, mass was reduced by more than 7-fold and colony radius by approximately 15-fold, compared to the control.

Keywords: growth regulators, fungal extract, oyster mushroom, elicitors, seed germination rate, antioxidant system, gene expression, phytopathogens

For citation: Tarasov S.S., Mikhalev E.V., Krutova E.K. Extract from spent oyster mushroom substrate: Composition, and regulatory and protective activity on germinating wheat seeds. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):357-369. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.991. EDN: UNUPYQ.

ВВЕДЕНИЕ

Регуляторы роста и развития растений (далее – регуляторы) представляют собой сложную по природе группу компонентов, используемых в растениеводстве [1, 2]. Особое место среди них занимают комплексные регуляторы, являющиеся сложной гетерогенной структурой, в которой регулирующим действием может обладать множество компонентов [2]. К комплексным регуляторам относят различные остатки растительного или животного происхождения, навоз, компосты, микробные сообщества ризосферы, пищеварительного тракта животных, экстракты растений, грибов, тканей животных, продукты их жизнедеятельности и т.д., что делает их наиболее доступными и экономически эффективными [1, 3]. Особое место в качестве сырья для получения комплексных регуляторов занимают отходы грибоводства, в частности отходы производства целлюлозоразрушающих грибов [2, 4–6].

Основными функциональными компонентами грибных экстрактов, обладающих регуляторными свойствами, могут являться разлагающиеся органические вещества, гуминовые вещества (фульвовые, гуминовые кислоты и гуматы), простые сахара, свободные аминокислоты, хитозан, минеральные компоненты и ряд других веществ в зависимости от их природы [3, 7]. Продукты некоторых микромицетов используются в качестве веществ, обладающих протекторным и регулирующим свойствами [8]. Одним из механизмов регуляции грибами растительного метаболизма является биосинтез элиситоров, которые связываются с растениями, запуская внутриклеточные защитные реакции [9], однако этот механизм исследован не полностью. Предполагается, что элиситор связывается с рецептором, вызывая трансдукцию сигнала с участием нескольких сигнальных систем, в том числе фитогормонов, ионов Ca^{2+} , G-белков, фосфолипаз, никотинамидадениндинуклеотидфосфоксидазы, активных форм кислорода и т.д. [10–12].

Многочисленные исследования, иллюстрирующие элиситорное действие компонентов на основе грибов, преимущественно посвящены микромицетам [3, 9–13]. Достаточной информации об элиситорном действии высших базидиальных грибов не приводится. В связи с этим целью данной работы являлось исследование состава экстракта из отработанного соломенного субстрата вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*)

(далее – экстракт) и изучение его регуляторных и протекторных свойств.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Экстракт готовили из отработанного соломенного субстрата вешенки после трех волн плодоношения. Для этого получали первичную и вторичную маточные культуры гриба, зерновой мицелий и субстратные блоки [14].

Первичную культуру изготавливали путем высадки фрагмента плодового тела гриба штамма High Quality-35 (HK-35), взятого из центра участка между ножкой и шляпкой, диаметром примерно 1 см³ на скошенную плотную питательную среду Чапека – Докса, модифицированную под мицелий (вместо дистиллированной воды использовался отвар ячменя) и культивировали в термостате при 37 °С до полного обрастания мицелием поверхности субстрата. Первичную маточную культуру переносили на аналогичную питательную среду, разлитую в чашки Петри, с толщиной слоя 3–5 мм путем забора мицелия микробиологической петлей и культивировали при аналогичных условиях. Полученный мицелий использовали для инокуляции субстрата, которым являлись семена ячменя. В течение 12 ч зерновки замачивали в водопроводной воде, в которую были добавлены мел и гипс в количестве 5 и 10 г на 1 кг набухших семян ячменя. Далее набухший ячмень помещали в колбы объемом 1 л в количестве 2/3 от объема, закрывали ватно-марлевым тампоном и автоклавировали при 200 °С и 1,5 атм. 30 мин. Остывший зерновой субстрат инокулировали вторичной маточной культурой в количестве 1/8 доли от чашки Петри на одну колбу, помещая мицелий пинцетом в наклоненную колбу над пламенем горелки, и аккуратно засыпали зерном путем перемешивания содержимого колб. Культивировали при комнатной температуре в течение 14 суток до полного обрастания субстрата. Все работы, связанные с получением мицелия, проводились в стерильных условиях ламинар-бокса.

Для получения субстратных блоков использовали солому пшеницы возрастом 1 год, измельченную до 3–5 см, далее замачивали в водопроводной воде в течение 24 ч, а после автоклавировали при вышеуказанных условиях. Полученный соломенный субстрат инокулировали зерновым мицелием вешенки в количестве 5% от массы соломенного субстрата. Готовые субстратные блоки вначале культивировали

в течение 24 суток при комнатной температуре и влажности воздуха 60% для обрастания соломенного субстрата мицелием. Далее убрали в помещение с температурой 15–20 °С и влажностью воздуха 90% и выращивали в течение месяца (три волны плодоношения). По завершению плодоношения уже отработанные блоки использовали для получения экстракта.

Экстракт готовили путем высушивания отработанного субстрата в сушильном шкафу при температуре 105 °С в течение 1 ч. Для этого вырезали поперечные фрагменты блока толщиной 3–5 см в трех его участках: в середине и на расстоянии 1/2 от середины до концов блоков. По окончании сушки субстрат гомогенизировали до фракций не более 5 мм. После этого 10 г сухого вещества заливали 200 мл воды и экстрагировали в течение 6 ч при комнатной температуре, постоянно перемешивая на шейкере. Данные условия экстракции были обусловлены оптимальным соотношением воды к субстрату и временем для получения максимальной доли сухого вещества в экстракте. Содержимое колб фильтровали, твердую фракцию удаляли. Дальнейшие работы проводились с жидким компонентом.

Для понимания механизмов действия экстракта определяли наличие основных органо-минеральных компонентов, влияющих на рост и развитие растений. В нем общепринятым методом анализировали содержание доли сухого вещества и золы, общего белка, крахмала, свободных сахаров, аминокислот, гуминовых веществ, в том числе гуминовых и фульвовых кислот, хитозана, нитратов, и долю некоторых макро- и микроэлементов (К, Са, Р, Fe, Cu, Mn, Zn) минерального питания растений [15–18].

В качестве объекта исследования влияния экстракта на растения использовали семена пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Экада-70. Определение оптимальных доз экстракта проводили путем оценки влияния его различных концентраций (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100%) относительно маточного раствора на скорость прорастания семян пшеницы. Семена замачивали в растворах экстракта в соответствующей концентрации, контролем служили семена, замоченные в водопроводной воде.

Регуляторную способность экстракта оценивали путем определения скорости прорастания семян и изменения доли сухого вещества в течение 7 суток. Скорость про-

растания определяли по методике, основанной отношении суммы разниц количества проросших в соответствующие сутки прорастания семян к общему количеству семян [19], с авторской модификацией. Данный показатель оценивали по количеству проросших семян (соответствующей энергии прорастания для пшеницы) ежесуточно начиная с 1-х и заканчивая 3-ми сутками. Расчет скорости прорастания *СП*, усл. ед., осуществлялся по формуле:

$$СП = \frac{n_1 + n_2 + n_3}{D_1 + D_2 + D_3} \cdot N$$

где *N* – общее количество семян в партии; *D*_{1,2,3} – количество суток, прошедших с начала эксперимента, через которое фиксируется количество взошедших семян; *n*_{1,2,3} – количество взошедших семян через соответствующие сутки от начала эксперимента. Сухое вещество прорастающих семян и проростков определяли ежесуточно в течение недели в соответствии с ГОСТ 12041-82¹.

Внутриклеточную протекторную способность экстракта определяли за счет измерения активности ключевых антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, растворимой пероксидазы и экспрессии их генов. Активность супероксиддисмутазы определяли по ее способности реагировать с нитросиним тетразолием [20]. Активность каталазы в прорастающих семенах определяли газометрически [17]. Активность растворимых пероксидаз оценивали по интенсивности окрашивания раствора бензидиновой синью [17]. Экспрессию генов, кодирующих ферменты антиоксидантной системы в прорастающих семенах, определяли полуколичественно с помощью полимеразной цепной реакции по конечной точке с последующей визуализацией в агарозном геле [21]. Для этого 0,05 г биоматериала гомогенизировали с использованием набора для выделения тотальной РНК ExtractRNA («Евроген», Россия). кДНК синтезировали при помощи набора для обратной транскрипции ОТ-1 с M-MLV обратной транскриптазой и рандомными гексапраймерами («Синтол», Россия). В качестве референсного гена использовался ген актина. Подбор праймеров проводили по кодирующему участку гена в программе Primer-BLAST². Полученные олигонуклеотиды представлены в табл. 1.

Таблица 1. Нуклеотидная последовательность праймеров для проведения полимеразной цепной реакции

Table 1. Nucleotide sequence of primers for polymerase chain reaction

Ген	Тип праймера	Последовательность 5'–3'	Номер NCBI	Температура отжига, °С	Размер ампликона, пн
<i>TaAct</i>	L	CTTCGTTTGGATCTCGCTGG	KC775780.1	60	229
	R	GCCAATCGTGATGACCTGAC		60	
<i>TaSOD-1</i>	L	ATTCAATTGTTGGCCGTGCT	JQ269677.1	57	171
	R	CAGATCTGTACGACGTTGGC		56	
<i>TaCAT</i>	L	ACAATTTGACCGGGAACGCATA	X94352.1	60	165
	R	CAACGGTAGAGAACCGGACA		60	
<i>TaPOD</i>	L	AGATGGGCCAGATGAGGGT	AB518867.1	60	129
	R	ATCGACGATGGTCTGCACAA		58	

¹ГОСТ 12041-82. Семена сельскохозяйственных культур. Метод определения влажности. М.: Стандартинформ, 2011. 8 с.

²Primer-BLAST // Ncbi.nlm.nih.gov. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast> (дата обращения: 12.08.2025).

Внешнее защитное действие экстракта изучали как на прорастающих семенах, так и в условиях культуры на питательных средах. Влияние экстракта на культуры патогенов определяли путем воздействия на рост и развитие некоторых микромицетов (*Aspergillus niger* и *Alternaria alternata*) с последующим культивированием на жидкой и плотной питательных средах Чапека – Докса. Для этого использовали два типа сред: контрольную среду, которая имела классический состав, и модифицированную среду с добавлением 10%-го экстракта. Рост биомассы на жидкой питательной среде оценивали путем взвешивания мицелия после глубокого культивирования микромицетов в колбах Эрленмейера на 250 мл в течение 14 суток в условиях шейкера-инкубатора при температуре 37 °С с постоянным встряхиванием со скоростью 200 об/мин. Скорость роста колоний определяли путем посева спор методом укола на плотную питательную среду. Среднюю скорость оценивали на 14-е сутки культивирования³.

Для исследования химического состава экстракта использовали три независимые партии. Каждую партию готовили путем смешения трех разных блоков, анализ каждой партии проводили в трех повторностях. Эксперименты по исследованию влияния экстракта на растения и фитопатогены проводили в трех биологических повторностях, а каждый образец анализировали в трех аналитических повторностях. Результаты обрабатывали статистически, рассчитывая среднее арифметическое *M* и стандартные отклонения σ с использованием программы Microsoft Excel 2010. Достоверность различий

оценивалось по t-критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони и H-критерию Крускала – Уоллиса, уровень значимости достоверности составил 95% [22].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Сложный биохимический состав экстракта указывает на его гетерогенную природу, фактически он содержит в себе многие компоненты, которые характерны как для мицелия вешенки, так и для соломы злаковых растений. При этом их соотношение может быть разным и зависит от особенностей жизнедеятельности гриба (разрушение многих органических веществ, накопление продуктов гидролиза и синтез собственных метаболитов), а также внесения добавок (мел, гипс и пр.) при производстве грибных блоков и особенностей получения данного регулятора путем высушивания субстрата с последующей водной экстракцией. Основные компоненты экстракта представлены в табл. 2.

Была определена массовая доля сухого вещества в экстракте, она не превышала 2%. Таким образом, концентрированный экстракт является 2%-м раствором. Ключевыми компонентами экстракта оказались белки, углеводы, гумус и зола, доля свободных аминокислот составила менее 0,1%, а редуцирующих сахаров – не более 0,5%.

Наличие гумуса в составе экстракта свидетельствует о том, что его компоненты, по-видимому, претерпевают изменения аналогично органическому веществу в почве. Расчет коэффициента цветности (E465:E650) показал низкую степень ароматичности гуминовых кислот в

Таблица 2. Биохимическая характеристика экстракта

Table 2. Biochemical characteristics of the extract

Показатель, ед. измерения на 100 мл экстракта	Содержание	Содержание, %
Сухое вещество, г	1,8330±0,3330	1,8300±0,3330
Органическое вещество, г	1,4660±0,1210	1,4660±0,121 0
pH	7,2330±0,0880	-
Гумус общий, г:	0,8110±0,0550	0,8110±0,0550
гуминовые кислоты, г	0,4250±0,0160	0,4250±0,0160
фульвовые кислоты, г	0,3960±0,0410	0,3960±0,0410
степень гумификации органического вещества	0,5530	-
отношение E465:E650	3,0430±0,1530	-
Углеводы, г:	0,5690±0,0220	0,5690±0,0220
крахмал, г	0,1170±0,0730	0,1170±0,0730
редуцирующие сахара, г	0,4523±0,0180	0,4523±0,0180
Общий белок, г	0,4920±0,0310	0,4920±0,0310
Свободные аминокислоты, г	0,0840±0,0090	0,0840±0,0090
Хитозан, мг	1,3720±0,0310	Следы
Зола, г	0,3670±0,0280	0,3670±0,0280
Калий, г	0,0550±0,0034	0,0550±0,0034
Кальций, г	0,0788±0,0041	0,0788±0,0041
Фосфор, г	0,0289±0,0037	0,0289±0,0037
Железо, мг	4,0850±0,0424	Следы
Медь, мг	0,0323±0,0026	Следы
Марганец, мг	0,2422±0,0031	Следы
Цинк, мг	0,1429±0,0017	Следы
Нитраты, мг	0,5213±0,0020	Следы

³Методы экспериментальной микологии: справочник / А.И. Дудка, С.П. Вассер, И.А. Эланская [и др.], отв. ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка, 1982. 552 с.

Таблица 3. Доля основных элементов минерального питания в среде Кнопа и экстракте

Table 3. Proportion of the main elements of mineral nutrition in the Knop medium and extract

Элемент/ион	Доля в питательной среде Кнопа, г/л	Доля в 10%-м экстракте, г/л	Соотношение экстракт/среда Кнопа, %	Доля в 100%-м экстракте, г/л	Соотношение экстракт/среда Кнопа, %
K	0,1750	0,05500	31,430	0,5500	314,290
P	0,0445	0,02890	64,940	0,2890	649,440
Ca	0,2440	0,07880	32,300	0,7880	322,950
NO ₃ ⁻	0,7560	0,00052	0,069	0,0052	0,688

составе экстракта, что может свидетельствовать о низкой степени зрелости данных веществ по сравнению с гуминовыми кислотами различных почв [23]. Обнаружение в достаточном количестве хитозана, редуцирующих сахаров и свободных аминокислот также свидетельствует о существенных процессах деструкции [24].

Минеральный состав показывает наличие ключевых элементов минерального питания растений, однако их соотношение не соответствует нормам потребления большинства растений [25]. На основе анализа соотношения питательной среды Кнопа установлена оптимальная доля элементов минерального питания в составе раствора (табл. 3). Из таблицы видно, что 10%-й экстракт фактически обеднен элементами минерального питания и не может удовлетворять потребностям растений при долговременном культивировании в качестве единственного источника минеральных веществ, а 100%-й экстракт, напротив, содержит большинство элементов минерального питания в профицитном количестве. Стоит отметить, что экстракт крайне обеднен нитратным азотом, который является основной формой потребления данного элемента растениями, однако большое содержание органики, по-видимому, может устранять такую недостаточность [26].

В результате испытания разных доз экстракта было установлено, что при концентрациях 10–30% происходит усиление скорости прорастания семян пшеницы, а использование экстракта в концентрациях 90–100% замедляет данный процесс (рис. 1). Следовательно, экстракт способен как активировать, так и замедлять рост и развитие пшеницы. Таким образом, более подробные исследования влияния экстракта на прорастающие семена пшеницы проводились с дозами 10% и 100%, которые наиболее достоверно отличаются от контроля.

Исследование динамики соотношений массовой доли сухого вещества и влаги в прорастающих семенах и проростках пшеницы выявило существенную зависимость от дозы экстракта. Так, через 1 сутки после замачивания было показано уменьшение массовой доли сухого вещества в семенах, прорастающих на 10%-м экстракте, тенденция сохранялась в течение 5 суток. В семенах, культивированных на 100%-м экстракте, достоверных отличий через сутки после замачивания семян выявлено не было. Массовая доля сухого вещества в прорастающих семенах пшеницы при применении 100%-го экстракта была выше на протяжении 2–5 суток прорастания, при этом максимальная разница с контролем фиксировалась на 3-и и 4-е сутки (рис. 2).

Усиление скорости прорастания и снижение доли сухого вещества при действии 10%-го экстракта, а также снижение ростовых реакций и увеличение доли сухого вещества при культивировании на 100%-м экстракте

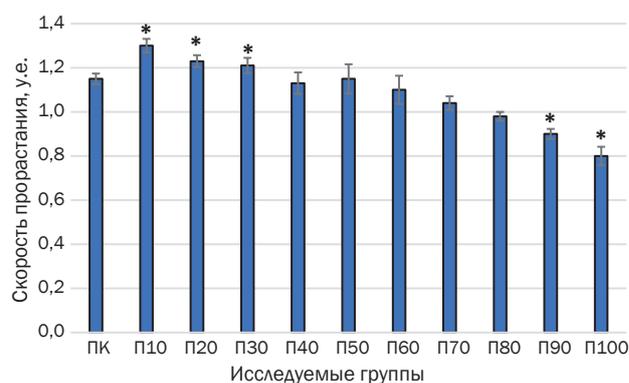


Рис. 1. Скорость прорастания семян пшеницы в зависимости от дозы экстракта (ПК – контрольные растения; П10–П100 – культивирование с применением 10–100%-го экстракта соответственно; * $p \leq 0,05$ относительно контроля по критерию Стьюдента)

Fig. 1. Germination rate of wheat seeds depending on the dose of extract (ПК are control plants, П10–П100 are cultivation using 10–100% extracts, respectively; * $p \leq 0.05$ relative to the control according to Student's criterion)

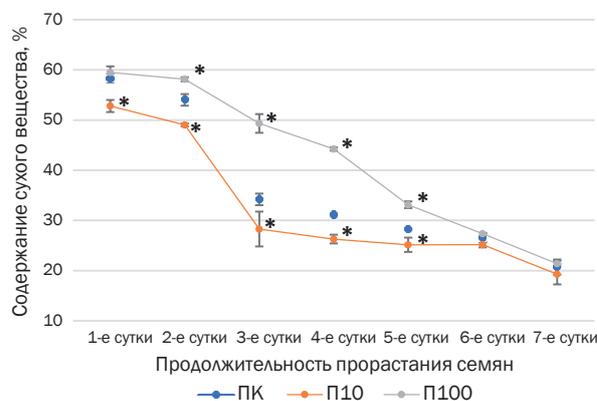


Рис. 2. Динамика содержания массовой доли сухого вещества в прорастающих семенах пшеницы в зависимости от дозы экстракта (обозначения см. на рис. 1)

Fig. 2. Dynamics of the mass fraction content of dry matter in germinating wheat seeds depending on the dose of extract (see Fig. 1 for designations)

относительно контроля, вероятно, обусловлено не только особенностями биохимического состава экстракта, но и соотношением его компонентов. Так, известно, что хитозан в низких дозах (5 мкг/мл) способствует активации процессов прорастания семян [27], а в высоких (0,5–2,0 мг/мл¹) может существенно тормозить рост и развитие растений преимущественно за счет

действия на корни, увеличивая накопление ауксинов, снижая экспрессию генов *WOX5* в апикальной меристеме и останавливая рост корней, способствует увеличению активных форм кислорода [28]. Согласно расчетам, 100%-й экстракт содержит примерно 13,70 мкг/мл хитозана, что практически в 3 раза больше показателя, представленного в работе Р. Ли и др. [27], 10%-й экстракт, в свою очередь, содержит около 1,37 мкг/мл, что в 3,5 раза меньше, однако это не отвергает его возможного стимулирующего действия в данной концентрации. Как отмечает Р. Ли с соавторами, низкие концентрации хитозана способствуют увеличению его адсорбции поверхностью семян, что вполне допускает его ростостимулирующее влияние в менее низких концентрациях, чем изучалось данными авторами.

Известна способность редуцирующих сахаров (глюкозы, фруктозы и пр.) влиять на процессы и редокс-метаболизм прорастающих семян, при этом эффект прямо зависит от их концентрации [29, 30]. В частности, И. Чжао и др. было показано стимулирующие действие экзогенной глюкозы и сахарозы на прорастающие семена кукурузы и их антиоксидантный статус в концентрациях 0,5 ммоль/л [30], а Дж.П. То с соавторами продемонстрировала ингибирующее действие глюкозы в концентрации 0,3 М [31]. Содержание же редуцирующих сахаров в 10%-м экстракте примерно в 5 раз выше по сравнению с дозами, использованными И. Чжао с соавторами, но в 44 раза ниже, чем ростингибирующие дозы, продемонстрированные в работах Дж.П. То и др. Это дает основание считать, что данные концентрации редуцирующих сахаров находятся в зоне активирования процессов прорастания семян. Диаметрально противоположенная картина наблюдалась с концентрацией сахаров в 100%-м экстракте: их содержание было в 50 раз выше, чем упомянутая ростактивирующая доза, и примерно в 4,5 раза ниже, чем описанная ростингибирующая доза.

Исследуемый экстракт фактически является сложной гетерогенной системой, многие его компоненты, по-видимому, обладают регуляторным механизмом. Комплексные регуляторы роста и развития растений, к которым относится данный экстракт, способны влиять на многочисленные физиолого-биохимические процессы, включая клеточный сигналинг, репликацию ДНК, клеточное деление, синтез белка, активацию и ингибирование ферментов, запуск энергетических процессов, активацию про- и антиоксидантной системы и т.д. [1, 2, 10–12, 32]. Одним из важных аспектов регулирования физиологических процессов является регулирование ферментативной антиоксидантной системы растений, от работы которой зависят протекторные реакции растений и, как следствие, устойчивость к среде.

Исследования активности и экспрессии некоторых генов основных антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидаза) выявило четкую зависимость изучаемых показателей от дозы экстракта, однако данные реакции были неодинаковы.

При культивировании семян на 10%-м экстракте активность супероксиддисмутазы была достоверно выше контроля, а в опытных группах семян, прорастающих с

применением 100%-го экстракта, активность фермента была ниже, чем в контрольных образцах (рис. 3, а). Схожая динамика была выявлена и при исследовании экспрессии одного из генов *SOD-1* пшеницы (рис. 3, б).

Активность каталазы (рис. 4, а) и экспрессия исследуемого гена *CAT* (рис 4, б) в прорастающих семенах во всех опытных группах не отличались от контрольных образцов.

Оценка активности растворимой пероксидазы и экспрессии одного из ее генов показала результат, отличный от показателей других исследуемых ферментов антиоксидантной системы. В семенах, прорастающих как на 10%-м, так и на 100%-м экстракте, активность пероксидазы была ниже, чем в контроле (рис. 5, а), экспрессия гена *POD* не отличалась от контроля в группе семян, культивируемых на 10%-м экстракте, и была меньше в образцах, выращенных на 100%-м экстракте (рис. 5, б).

Механизм, лежащий в основе изменения антиоксидантных систем растений под действием экстракта, вероятнее всего, связан с действием элиситоров (в том числе хитозана, содержащегося в исследуемом экстракте) или эффекторов на изучаемые прорастающие семена [33]. Считается, что одной из первых реакций растений на действие элиситоров является генерация активных форм кислорода [33–35]. Активные формы кислорода, в свою очередь, могут выступать мессенджерами, запускающими реакции ответа растений на элиситорное воздействие [9, 35, 36], тем самым они способствуют активации или подавлению антиоксидантных систем растений [33, 37]. Так, усиление активности супероксиддисмутазы в прорастающих семенах пшеницы при использовании 10%-го экстракта, по-видимому, связано с активацией экспрессии генов за счет сигнализации элиситорами, содержащимися в экстракте. Похожие результаты были продемонстрированы при действии дрожжевых экстрактов на каллусные культуры *Linum grandiflorum* Desf., что приводило к усилению биосинтеза фенольных соединений [13]. При обработке гликопротеиновым элиситором, выделенным из культуры гриба *Magnaporthe oryzae*, была индуцирована антиоксидантная активность в листьях *Oryza sativa* L. [38].

Не стоит забывать о возможном влиянии на изменение антиоксидантных систем растений гуминовых веществ, содержащихся в экстракте. Например, была продемонстрирована способность гуминовых веществ снижать у пшеницы биотический стресс, вызванный патогенным грибом *Fusarium graminearum* [39]. Внекорневое применение гуминовых веществ повышало концентрацию антиоксидантов (β -токоферол, β -каротин и аскорбиновая кислота) и увеличивало активность супероксиддисмутаза в тканях злаковых растений (*Festuca arundinacea* Schreb, *Poa pratensis* L., *Agrostis palustris* Huds.)⁴. Была продемонстрирована способность гуминовых веществ снижать уровень солевого стресса у кормового сорго [40], что способствовало усилению активности антиоксидантных ферментов и снижению уровня перекисного окисления липидов. Эти сведения

⁴Zhang X. Influence of plant growth regulators on turf grass growth, antioxidant status, and drought tolerance: PhD thesis. Blacksburg: Virginia Polytechnic Institute and State University, 1997. 144 p.

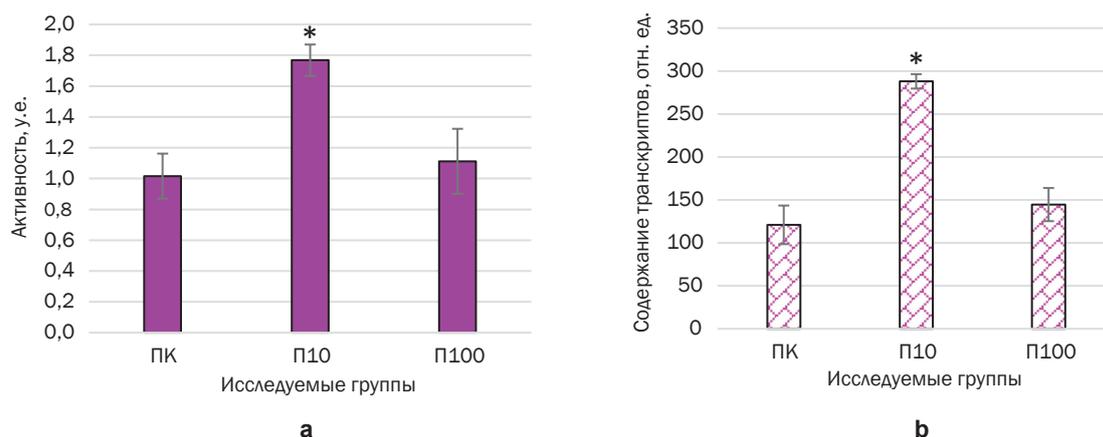


Рис. 3. Влияние дозы экстракта на активность супероксиддисмутазы (а) и содержание транскриптов гена *SOD-1* (b) в прорастающих семенах пшеницы (обозначения см. на рис. 1)

Fig. 3. Effect of extract dose on superoxide dismutase activity (a) and *SOD-1* gene transcript content (b) in germinating wheat seeds (see Fig. 1 for designations)

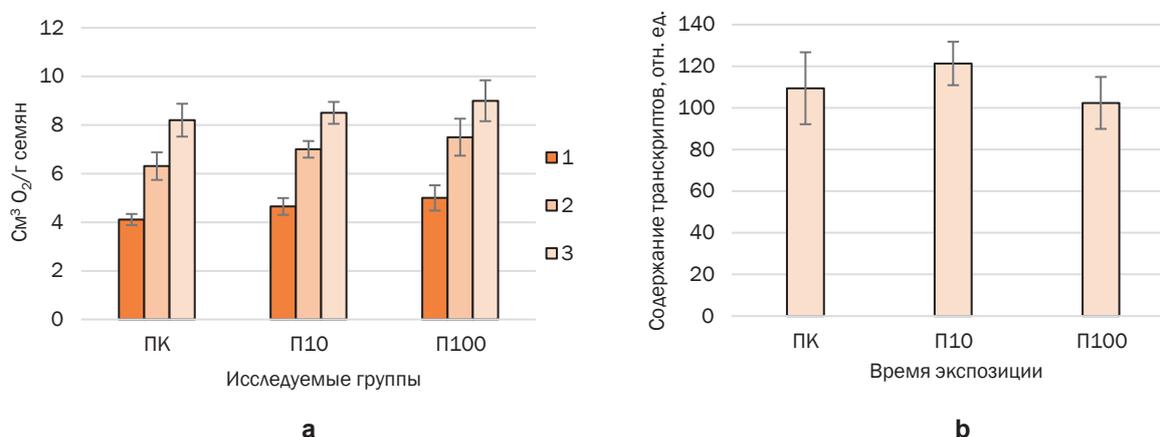


Рис. 4. Влияние дозы экстракта на активность каталазы (а) и содержание транскриптов гена *CAT* (b) в прорастающих семенах пшеницы (1, 2, 3 – время фиксации активности фермента, мин) (обозначения см. на рис. 1)

Fig. 4. Effect of extract dose on catalase activity (a) and the content of *CAT* gene transcripts (b) in germinating wheat seeds (1, 2, 3 – time of enzyme activity recording, min) (see Fig. 1 for designations)

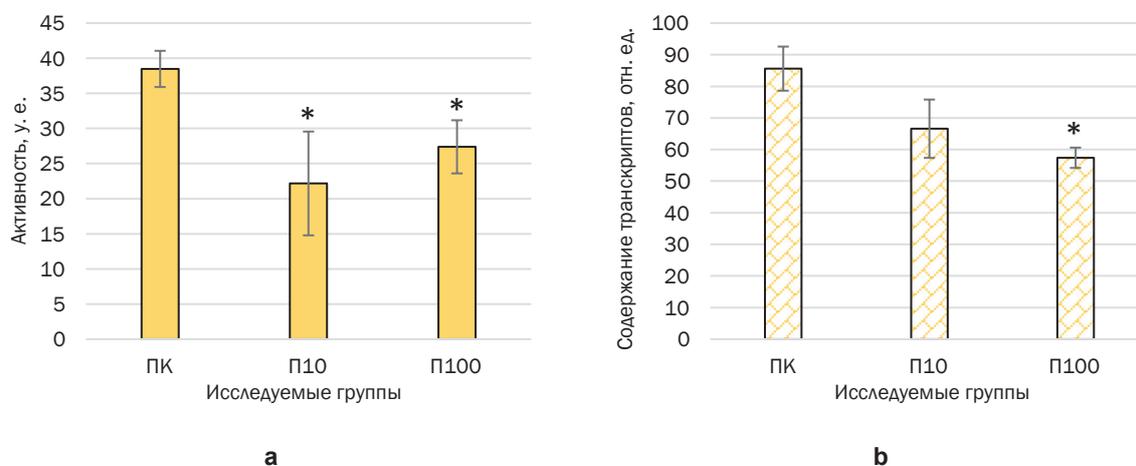


Рис. 5. Влияние дозы экстракта на активность пероксидазы (а) и содержание транскриптов гена *POD* (b) в прорастающих семенах пшеницы (обозначения см. на рис. 1)

Fig. 5. Effect of extract dose on the dynamics of peroxidases activity (a) and the content of *POD* gene transcripts (b) in germinating seeds and wheat sprouts (see Fig. 1 for designations)

Таблица 4. Влияние экстракта на морфометрические показатели некоторых фитопатогенов, культивируемых на жидкой и плотной питательных средах Чапека – Докса (обозначения см. на рис. 1)

Table 4. Effect of the extract on the morphometric parameters of some phytopathogens cultivated on liquid and dense nutrient media of Chapek – Dox (see Fig. 1 for designations)

Показатель	Вид гриба	Контроль	Действие 10%-го экстракта
Масса гриба, г	<i>Aspergillus niger</i>	0,447±0,026	*0,072±0,005
	<i>Aspergillus alternata</i>	0,347±0,027	*0,062±0,002
Радиус колоний, мм	<i>Aspergillus niger</i>	35,633±1,257	*4,533±0,219
	<i>Aspergillus alternata</i>	46,233±1,868	*3,033±0,186

Примечание. * – достоверность в соответствии с критерием Стьюдента, обозначения см. на рис. 1

согласуются с полученными в данной работе. Таким образом, усиление активности антиоксидантных ферментов и экспрессии их генов, помимо прочего, может быть обусловлено, с одной стороны, умеренным наличием гуминовых веществ в составе 10%-го экстракта, с другой – подавлением работы антиоксидантных систем из-за высокого содержания гуминовых веществ.

Эксперимент по влиянию экстракта на пораженность прорастающих семян показал высокую степень зараженности патогенами у исследуемых семян пшеницы (рис. 6). Природа патогенов оказалась разнообразной, однако основными были плесневые микромицеты (визуально идентифицированные как *Mucor racemosus*). Экстракт с дозой 10% существенно снижал количество пораженных семян, а применение 100%-го экстракта на протяжении всего наблюдения почти полностью подавляло рост фитопатогенов.

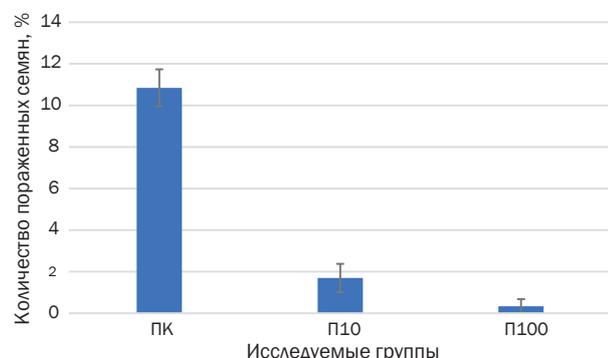


Рис. 6. Степень пораженности фитопатогенной микрофлорой прорастающих семян в зависимости от дозы экстракта (n = 300) (обозначения см. на рис. 1)

Fig. 6. Degree of infection of germinating seeds by phytopathogenic microflora depending on the dose of extract (n = 300) (see Fig. 1 for designations)

Экстракт с концентрацией 10% от массы питательных сред существенно подавлял рост и развитие грибов. При культивировании на жидкой питательной среде с добавлением экстракта было зафиксировано многократное снижение более чем в 6 раз массы гриба *Aspergillus niger* и более чем в 7 раз массы гриба *Alternaria alternata*. Радиус колоний у микромицета *Aspergillus niger* уменьшался почти в 8 раз, а у фитопатогена *Alternaria alternata* – более чем в 15 раз (табл. 4).

Существенная ростингибирующая способность экстракта в отношении микромицетов, по-видимому,

обусловлена, с одной стороны, наличием метаболитов, препятствующих росту и развитию фитопатогенов, с другой – активацией общего иммунитета растений за счет элиситерного действия экстракта. Например, известна способность хитозана как отдельно, так и в составе композитов ингибировать рост и развитие фитопатогенов [41, 42] и усиливать иммунитет растений, в том числе путем активации антиоксидантных систем [33, 37]. Роль гуминовых веществ неоднозначна: продемонстрировалось подавляющее, стимулирующее и нейтральное действие гуминовых веществ на культуры микромицетов [43, 44]. Кроме того, возможно наличие в составе экстракта аллелопатов вешенки, которые блокируют рост и развитие многих патогенных грибов [45].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В связи с вышесказанным можно сделать следующие выводы:

1. Экстракт из отработанного соломенного субстрата вешенки – сложная гетерогенная структура, обладающая рострегуляторным и протекторным действием, содержащая компоненты живых систем (белки, углеводы), вещества, свидетельствующие о процессах деструкции (свободные аминокислоты, редуцирующие сахара, хитозан), гумификации (гуминовые и фульвовые кислоты), а также минеральные компоненты.

2. Экстракт в относительно низких концентрациях (10–30%) способствует усилению прорастания семян пшеницы, а в высоких по сравнению с маточным раствором концентрациях (90–100%), напротив, ингибирует ростовые процессы.

3. Применение 10%-го экстракта усиливало активность супероксиддисмутазы и экспрессию одного из генов *SOD-1*, не влияло на активность каталазы и содержание транскриптов исследуемых генов *CAT* и *POD*, но подавляло активность пероксидазы. Культивирование семян с применением 100%-го экстракта не повлияло на активность супероксиддисмутазы, каталазы и содержание транскриптов исследуемых генов, но подавляло активность пероксидазы и экспрессию изучаемого гена *POD*.

4. Выявлено существенное дозозависимое ингибирующее влияние как 10%-го, так и 100%-го экстракта на рост и развитие фитопатогенов, что способствовало снижению общей степени пораженности семян пшеницы. Продемонстрировано многократное снижение массы мицелия и рост колоний *Aspergillus niger* и *Alternaria alternata* при добавлении экстракта в среду Чапека – Докса в количестве 10%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ruzzi M., Colla G., Roupheal Y. Editorial: Biostimulants in agriculture II: towards a sustainable future // *Frontiers in Plant Science*. 2024. Vol. 15. P. 1427283. DOI: 10.3389/fpls.2024.1427283.
2. Тарасов С.С., Михалев Е.В., Речкин А.И., Крутова Е.К. Регуляторы роста и развития растений: классификация, природа и механизм действия // *Агрехимия*. 2023. N 9. С. 65–80. DOI: 10.31857/S0002188123090120. EDN: YUDEAW.
3. Bartucca M.L., Cerri M., Del Buono D., Forni C. Use of biostimulants as a new approach for the improvement of phytoremediation performance – a review // *Plants (Basel)*. 2022. Vol. 11, no. 15. P. 1946. DOI: 10.3390/plants11151946.
4. Rao J.R., Watabe M., Stewart T.A., Millar B.C., Moore J.E. Pelleted organo-mineral fertilisers from composted pig slurry solids, animal wastes and spent mushroom compost for amenity grasslands // *Waste Management*. 2007. Vol 27, no. 9. P. 1117–1128. DOI: 10.1016/j.wasman.2006.06.010.
5. Chang K.-L., Chen X.-M., Sun J., Liu J., Sun S., Yang Z., et al. Spent mushroom substrate biochar as a potential amendment in pig manure and rice straw composting processes // *Environmental Technology*. 2017. Vol. 38, no. 13–14. P. 1765–1769. DOI: 10.1080/09593330.2016.1234000.
6. Wan Mahari W.A., Peng W., Nam W.L., Yang H., Lee X.Y., Lee Y.K., et al. A review on valorization of oyster mushroom and waste generated in the mushroom cultivation industry // *Journal of Hazardous Materials*. 2020. Vol. 400. P. 123156. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.123156.
7. Monda H., Cozzolino V., Vinci G., Spaccini R., Piccolo A. Molecular characteristics of water-extractable organic matter from different composted biomasses and their effects on seed germination and early growth of maize // *Science of the Total Environment*. 2017. Vol. 590–591. P. 40–49. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.026.
8. Chen H., Mao L., Zhao N., Xia C., Liu J., Kubicek C.P., et al. Verification of *TR13* acetylation of trichoderminol to trichodermin in the plant endophyte *Trichoderma taxi* // *Frontiers in Microbiology*. 2021. Vol. 12. P. 731425. DOI: 10.3389/fmicb.2021.731425.
9. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002. 293 с.
10. Guo J., Cheng Y. Advances in fungal elicitor-triggered plant immunity // *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23, no. 19. P. 12003. DOI: 10.3390/ijms231912003.
11. Pršić J., Ongena M. Elicitors of plant immunity triggered by beneficial bacteria // *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 11. P. 594530. DOI: 10.3389/fpls.2020.594530.
12. Alcalde M.A., Perez-Matas E., Escrich A., Cusido R.M., Palazon J., Bonfill M. Biotic elicitors in adventitious and hairy root cultures: a review from 2010 to 2022 // *Molecules*. 2022. Vol. 27, no. 16. P. 5253. DOI: 10.3390/molecules27165253.
13. Goncharuk E.A., Saibel O.L., Zaitsev G.P., Zagorskina N.V. The elicitor effect of yeast extract on the accumulation of phenolic compounds in *Linum grandiflorum* cells cultured *in vitro* and their antiradical activity // *Biology Bulletin*. 2022. Vol. 49. P. 620–628. DOI: 10.1134/S1062359022060061.
14. Морозов А.И. Грибы: руководство по разведению. Донецк: Сталкер, 2000. 304 с.
15. Lowry O.N., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *Journal of Biological Chemistry*. 1951. Vol. 193, no. 1. P. 265–275. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6.
16. Агрехимические методы исследования почв / отв. ред. А.В. Соколов. М.: Наука, 1975. 656 с.
17. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. Л.: Колос, 1972. 456 с.
18. Muzzarelli R.A.A. Colorimetric determination of chitosan // *Analytical Biochemistry*. 1998. Vol. 260, no. 2. P. 255–257. DOI: 10.1006/abio.1998.2705.
19. Zhang G., Xu J., Wang Y., Sun X., Huang S., Huang L., et al. Combined transcriptome and metabolome analyses reveal the mechanisms of ultrasonication improvement of brown rice germination // *Ultrasonics Sonochemistry*. 2022. Vol. 91. P. 106239. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2022.106239.
20. Poleskaya O.G., Kashirina E.I., Alekhina N.D. Changes in the activity of antioxidant enzymes in wheat leaves and roots as a function of nitrogen source and supply // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2004. Vol. 51. P. 615–620. DOI: 10.1023/B:RUPP.0000040746.66725.77.
21. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / под редакцией В.В. Кузнецова, В.В. Кузнецова, Г.А. Романова. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. 487 с. EDN: QKUIDH.
22. Гланц С. Медико-биологическая статистика / пер. с англ. М.: Практика, 1999. 462 с.
23. Бажина Н.Л., Ондар Е.Э., Дерябина Ю.М. Специфика поглощения света в видимой и ультрафиолетовой области спектра гуминовыми кислотами почв западной части территории Тувы // *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2014. N 6. С. 189–194. EDN: SNRJJN.
24. Lopez-Moya F., Suarez-Fernandez M., Lopez-Llorca L.V. Molecular mechanisms of chitosan interactions with fungi and plants // *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. Vol. 20, no. 2. P. 332. DOI: 10.3390/ijms20020332.
25. Rouached H., Tran L.-S.P. Regulation of plant mineral nutrition: transport, sensing and signaling // *International Journal of Molecular Sciences*. 2015. Vol. 16, no. 12. P. 29717–29719. DOI: 10.3390/ijms161226198.
26. Чистяков И.В., Трофимов Г.Я., Лысак А.В., Степанов А.А. Изменение состава и свойств гуминовых кислот под влиянием микроорганизмов // *Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение*. 2013. N 1. С. 54–59. EDN: PYWIBJ.
27. Li R., He J., Xie H., Wang W., Bose S.K., Sun Y., Hu J., et al. Effects of chitosan nanoparticles on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019. Vol. 126. P. 91–100. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.118.
28. Lopez-Moya F., Escudero N., Zavala-Gonzalez E.A., Esteve-Bruna D., Blázquez M.A., Alabadi D., et al. Induction of auxin biosynthesis and *WOX5* repression mediate changes in root development in *Arabidopsis* exposed to chitosan // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. P. 16813. DOI: 10.1038/s41598-017-16874-5.

29. Mishra B.S., Sharma M., Laxmi A. Role of sugar and auxin crosstalk in plant growth and development // *Physiologia Plantarum*. 2022. Vol. 174, no. 1. P. e13546. DOI: 10.1111/ppl.13546.
30. Zhao Y., Yang K., Li Z., Zhao C., Xu J., Hu X., et al. Alleviation of salt stress during maize seed germination by presoaking with exogenous sugar // *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*. 2015. Vol. 26, no. 9. P. 2735–2742.
31. To J.P., Reiter W.-D., Gibson S.I. Mobilization of seed storage lipid by Arabidopsis seedlings is retarded in the presence of exogenous sugars // *BMC Plant Biology*. 2002. Vol. 2. P. 4. DOI: 10.1186/1471-2229-2-4.
32. Pereira C., Dias M.I., Petropoulos S.A., Plexida S., Chrysargyris A., Tzortzakis N., et al. The effects of biostimulants, biofertilizers and water-stress on nutritional value and chemical composition of two spinach genotypes (*Spinacia oleracea* L.) // *Molecules*. 2019. Vol. 24, no. 24. P. 4494. DOI: 10.3390/molecules24244494.
33. Guo J., Cheng Y. Advances in fungal elicitor-triggered plant immunity // *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23, no. 19. P. 12003. DOI: 10.3390/ijms231912003.
34. Abdul Malik N.A., Kumar I.S., Nadarajah K. Elicitor and receptor molecules: orchestrators of plant defense and immunity // *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21, no. 3. P. 963. DOI: 10.3390/ijms21030963.
35. Hasanuzzaman M., Bhuyan M.H.M.B., Zulfiqar F., Raza A., Mohsin S.M., Mahmud J.A., et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator // *Antioxidants*. 2020. Vol. 9, no. 8. P. 681. DOI: 10.3390/antiox9080681.
36. Marti L., Savatin D.-V., Gigli-Bisceglia N., de Turris V., Cervone F., De Lorenzo G. The intracellular ROS accumulation in elicitor-induced immunity requires the multiple organelle-targeted Arabidopsis NPK1-related protein kinases // *Plant, Cell & Environment*. 2021. Vol. 44, no. 3. P. 931–947. DOI: 10.1111/pce.13978.
37. Fang Y., Gu Y. Regulation of plant immunity by nuclear membrane-associated mechanisms // *Frontiers in Immunology*. 2021. Vol. 12. P. 771065. DOI: 10.3389/fimmu.2021.771065.
38. Li Z., Zhang Y., Peng D., Wang X., Peng Y., He X., et al. Corrigendum: polyamine regulates tolerance to water stress in leaves of white clover associated with antioxidant defense and dehydrin genes via involvement in calcium messenger system and hydrogen peroxide signaling // *Frontiers in Physiology*. 2016. Vol. 7. P. 52. DOI: 10.3389/fphys.2016.00052.
39. Sakr M.T., El-Sarkassy N.M., Fuller M.P. Exogenously applied antioxidants and biostimulants counteract the adverse effect of biotic stress in wheat plant // *Agricultural Research & Technology: Open Access Journal*. 2017. Vol. 12, no. 4. P. 555853. DOI: 10.19080/ARTOAJ.2017.12.555853.
40. Ali A.Y.A., Zhou G., Elsididig A.M., Zhu G., Meng T., et al. Effects of jasmonic acid in foliar spray and an humic acid amendment to saline soils on forage sorghum plants' growth and antioxidant defense system // *PeerJ*. 2022. Vol. 10. P. e13793. DOI: 10.7717/peerj.13793.
41. Karamchandani B.M., Maurya P.A., Dalvi S.G., Waghmode S., Sharma D., Rahman P.K.S.M., et al. Synergistic activity of rhamnolipid biosurfactant and nanoparticles synthesized using fungal origin chitosan against phytopathogens // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022. Vol. 10. P. 917105. DOI: 10.3389/fbioe.2022.917105.
42. Saberi Riseh R., Vatankhah M., Hassanisaadi M., Kennedy J.F. Chitosan/silica: a hybrid formulation to mitigate phytopathogens // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023. Vol. 239. P. 124192. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124192.
43. Loffredo E., Berloco M., Senesi N. The role of humic fractions from soil and compost in controlling the growth in vitro of phytopathogenic and antagonistic soil-borne fungi // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2008. Vol. 69, no. 3. P. 350–357. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2007.11.005.
44. Fedoseeva E.V., Tereshina V.M., Danilova O.A., lanutsevich E.A., Yakimenko O.S., Terekhova V.A. Effect of humic acid on the composition of osmolytes and lipids in a melanin-containing phytopathogenic fungus *Alternaria alternata* // *Environmental Research*. 2021. Vol. 193. P. 110395. DOI: 10.1016/j.envres.2020.110395.
45. Zhang B., Li X., Zhang L., Gu L., Feng F., Li M., et al. Alleviatory effect of spent *Pleurotus eryngii* Quel substrate on replant problem of *Rehmannia glutinosa* Libosch // *International Journal of Phytoremediation*. 2018. Vol. 20, no. 1. P. 61–67. DOI: 10.1080/15226514.2017.1337064.

REFERENCES

1. Ruzzi M., Colla G., Roupheal Y. Editorial: Biostimulants in agriculture II: towards a sustainable future. *Frontiers in Plant Science*. 2024;15:1427283. DOI: 10.3389/fpls.2024.1427283.
2. Tarasov S.S., Mikhalev E.V., Rechkin A.I., Krutova E.K. Plant growth and development regulators: classification, nature and mechanism of action. *Agrokimiya*. 2023;9:65-80. (In Russian). DOI: 10.31857/S0002188123090120. EDN: YUDEAW.
3. Bartucca M.L., Cerri M., Del Buono D., Forni C. Use of biostimulants as a new approach for the improvement of phytoremediation performance – a review. *Plants (Basel)*. 2022;11(15):1946. DOI: 10.3390/plants11151946.
4. Rao J.R., Watabe M., Stewart T.A., Millar B.C., Moore J.E. Pelleted organo-mineral fertilisers from composted pig slurry solids, animal wastes and spent mushroom compost for amenity grasslands. *Waste Management*. 2007;27(9):1117-1128. DOI: 10.1016/j.wasman.2006.06.010.
5. Chang K.-L., Chen X.-M., Sun J., Liu J., Sun S., Yang Z., et al. Spent mushroom substrate biochar as a potential amendment in pig manure and rice straw composting processes. *Environmental Technology*. 2017;38(13-14):1765-1769. DOI: 10.1080/09593330.2016.1234000.
6. Wan Mahari W.A., Peng W., Nam W.L., Yang H., Lee X.Y., Lee Y.K., et al. A review on valorization of oyster mushroom and waste generated in the mushroom cultivation industry. *Journal of Hazardous Materials*. 2020;400:123156. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.123156.
7. Monda H., Cozzolino V., Vinci G., Spaccini R., Piccolo A. Molecular characteristics of water-extractable organic matter from different composted biomasses and their effects on seed germination and early growth of maize. *Science of the Total Environment*. 2017;590-591:40-49. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.026.
8. Chen H., Mao L., Zhao N., Xia C., Liu J., Kubicek C.P., et al. Verification of *TRI3* acetylation of trichodermol to

- trichodermin in the plant endophyte *Trichoderma taxi*. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:731425. DOI: 10.3389/fmicb.2021.731425.
9. Tarchevskii I.A. *Plant cell signaling systems*. Moscow: Nauka; 2002, 293 p. (In Russian).
10. Guo J., Cheng Y. Advances in fungal elicitor-triggered plant immunity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(19):12003. DOI: 10.3390/ijms231912003.
11. Pršić J., Ongena M. Elicitors of plant immunity triggered by beneficial bacteria. *Frontiers in Plant Science*. 2020;11:594530. DOI: 10.3389/fpls.2020.594530.
12. Alcalde M.A., Perez-Matas E., Escrich A., Cusido R.M., Palazon J., Bonfill M. Biotic elicitors in adventitious and hairy root cultures: a review from 2010 to 2022. *Molecules*. 2022;27(16):5253. DOI: 10.3390/molecules27165253.
13. Goncharuk E.A., Saibel O.L., Zaitsev G.P., Zagorskina N.V. The elicitor effect of yeast extract on the accumulation of phenolic compounds in *Linum grandiflorum* cells cultured *in vitro* and their antiradical activity. *Biology Bulletin*. 2022;49:620-628. DOI: 10.1134/S1062359022060061.
14. Morozov A.I. *Mushrooms: breeding guide*. Donetsk: Stalker; 2000, 304 p. (In Russian).
15. Lowry O.N., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 1951;193(1):265-275. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6.
16. Sokolov A.V. *Agrochemical methods of soil research*. Moscow: Nauka; 1975, 656 p. (In Russian).
17. Ermakov A.I. *Methods of biochemical research of plants*. Leningrad: Kolos; 1972, 456 p. (In Russian).
18. Muzzarelli R.A.A. Colorimetric determination of chitosan. *Analytical Biochemistry*. 1998;260(2):255-257. DOI: 10.1006/abio.1998.2705.
19. Zhang G., Xu J, Wang Y., Sun X., Huang S., Huang L., et al. Combined transcriptome and metabolome analyses reveal the mechanisms of ultrasonication improvement of brown rice germination. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2022;91:106239. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2022.106239.
20. Poleskaya O.G., Kashirina E.I., Alekhina N.D. Changes in the activity of antioxidant enzymes in wheat leaves and roots as a function of nitrogen source and supply. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2004;51:615-620. DOI: 10.1023/B:RUPP.0000040746.66725.77.
21. Kuznetsov V.V., Kuznetsov V.V., Romanov G.A. *Molecular genetics and biochemical methods in modern plant biology*. Moscow: BINOM. Laboratoriya znaniy; 2011, 487 p. (In Russian).
22. Glantz S.A. *Primer of biostatistics*; 1992, 472 p. (Russ. ed.: *Mediko-biologicheskaya statistika*. Moscow: Praktika; 1999, 462 p.).
23. Bazhina N.L., Ondar E.E., Deryabina Y.M. Specificity light absorption in visible and ultraviolet regions of humic acids of soils western part of the territory Tuva. *Vestnik of the Orenburg State University*. 2014;6:189-194. (In Russian). EDN: SNRJN.
24. Lopez-Moya F., Suarez-Fernandez M., Lopez-Llorca L.V. Molecular mechanisms of chitosan interactions with fungi and plants. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(2):332. DOI: 10.3390/ijms20020332.
25. Rouached H., Tran L.-S.P. Regulation of plant mineral nutrition: transport, sensing and signaling. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16(12):29717-29719. DOI: 10.3390/ijms161226198.
26. Chistyakov I.V., Trofimov S.Ya., Lysak L.V., Stepanov A.A. Changes in the composition and properties of humic acids under the influence of microorganisms. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 17: Pochvovedenie*. 2013;1:54-59. (In Russian). EDN: PYWIBJ.
27. Li R., He J., Xie H., Wang W., Bose S.K., Sun Y., Hu J., et al. Effects of chitosan nanoparticles on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;126:91-100. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.118.
28. Lopez-Moya F., Escudero N., Zavala-Gonzalez E.A., Esteve-Bruna D., Blázquez M.A., Alabadi D., et al. Induction of auxin biosynthesis and WOX5 repression mediate changes in root development in Arabidopsis exposed to chitosan. *Scientific Reports*. 2017;7:16813. DOI: 10.1038/s41598-017-16874-5.
29. Mishra B.S., Sharma M., Laxmi A. Role of sugar and auxin crosstalk in plant growth and development. *Physiologia Plantarum*. 2022;174(1):e13546. DOI: 10.1111/ppl.13546.
30. Zhao Y., Yang K., Li Z., Zhao C., Xu J., Hu X., et al. Alleviation of salt stress during maize seed germination by presoaking with exogenous sugar. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*. 2015;26(9):2735-2742.
31. To J.P., Reiter W.-D., Gibson S.I. Mobilization of seed storage lipid by Arabidopsis seedlings is retarded in the presence of exogenous sugars. *BMC Plant Biology*. 2002;2:4. DOI: 10.1186/1471-2229-2-4.
32. Pereira C., Dias M.I., Petropoulos S.A., Plexida S., Chrysargyris A., Tzortzakis N., et al. The effects of biostimulants, biofertilizers and water-stress on nutritional value and chemical composition of two spinach genotypes (*Spinacia oleracea* L.). *Molecules*. 2019;24(24):4494. DOI: 10.3390/molecules24244494.
33. Guo J., Cheng Y. Advances in fungal elicitor-triggered plant immunity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(19):12003. DOI: 10.3390/ijms231912003.
34. Abdul Malik N.A., Kumar I.S., Nadarajah K. Elicitor and receptor molecules: orchestrators of plant defense and immunity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(3):963. DOI: 10.3390/ijms21030963.
35. Hasanuzzaman M., Bhuyan M.H.M.B., Zulfiqar F., Raza A., Mohsin S.M., Mahmud J.A., et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*. 2020;9(8):681. DOI: 10.3390/antiox9080681.
36. Marti L., Savatin D.-V., Gigli-Bisceglia N., de Turrís V., Cervone F., De Lorenzo G. The intracellular ROS accumulation in elicitor-induced immunity requires the multiple organelle-targeted Arabidopsis NPK1-related protein kinases. *Plant, Cell & Environment*. 2021;44(3):931-947. DOI: 10.1111/pce.13978.
37. Fang Y., Gu Y. Regulation of plant immunity by nuclear membrane-associated mechanisms. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:771065. DOI: 10.3389/fimmu.2021.771065.
38. Li Z., Zhang Y., Peng D., Wang X., Peng Y., He X., et al. Corrigendum: polyamine regulates tolerance to water stress in leaves of white clover associated with antioxidant defense and dehydrin genes via involvement in calcium messenger system and hydrogen peroxide signaling. *Frontiers in Physiology*. 2016;7:52. DOI: 10.3389/fphys.2016.00052.

39. Sakr M.T., El-Sarkassy N.M., Fuller M.P. Exogenously applied antioxidants and biostimulants counteract the adverse effect of biotic stress in wheat plant. *Agricultural Research & Technology: Open Access Journal*. 2017;12(4):555853. DOI: 10.19080/ARTOAJ.2017.12.555853.

40. Ali A.Y.A., Zhou G., Elsiddig A.M., Zhu G., Meng T., et al. Effects of jasmonic acid in foliar spray and an humic acid amendment to saline soils on forage sorghum plants' growth and antioxidant defense system. *PeerJ*. 2022;10:e13793. DOI: 10.7717/peerj.13793.

41. Karamchandani B.M., Maurya P.A., Dalvi S.G., Waghmode S., Sharma D., Rahman P.K.S.M., et al. Synergistic activity of rhamnolipid biosurfactant and nanoparticles synthesized using fungal origin chitosan against phytopathogens. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022;10:917105. DOI: 10.3389/fbioe.2022.917105.

42. Saberi Riseh R., Vatankhah M., Hassanisaadi M., Kennedy J.F. Chitosan/silica: a hybrid formulation to

mitigate phytopathogens. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;239:124192. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124192.

43. Loffredo E., Berloco M., Senesi N. The role of humic fractions from soil and compost in controlling the growth in vitro of phytopathogenic and antagonistic soil-borne fungi. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2008;69(3):350-357. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2007.11.005.

44. Fedoseeva E.V., Tereshina V.M., Danilova O.A., Ianutsevich E.A., Yakimenko O.S., Terekhova V.A. Effect of humic acid on the composition of osmolytes and lipids in a melanin-containing phytopathogenic fungus *Alternaria alternata*. *Environmental Research*. 2021;193:110395. DOI: 10.1016/j.envres.2020.110395.

45. Zhang B., Li X., Zhang L., Gu L., Feng F., Li M., et al. Alleviatory effect of spent *Pleurotus eryngii* Quel substrate on replant problem of *Rehmannia glutinosa* Libosch. *International Journal of Phytoremediation*. 2018;20(1):61-67. DOI: 10.1080/15226514.2017.1337064.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Тарасов Сергей Сергеевич,

старший преподаватель,
Нижегородский государственный
агротехнологический университет,
603107, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 97,
Российская Федерация,
✉ tarasov_ss@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7774-6968>

Михалев Евгений Васильевич,

к.с.-х.н., доцент, доцент,
Нижегородский государственный
агротехнологический университет,
603107, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 97,
Российская Федерация,
zajakyn1898@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4320-8410>

Крутова Елена Константиновна,

к.б.н., доцент, заведующий кафедрой,
Нижегородский государственный
агротехнологический университет,
603107, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 97,
Российская Федерация,
elena.krutova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0456-7923>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Sergei S. Tarasov,

Senior Lecturer,
Nizhny Novgorod State Agrotechnological University,
97, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603107,
Russian Federation,
✉ tarasov_ss@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7774-6968>

Evgeny V. Mikhalev,

Cand. Sci. (Agriculture), Associate Professor, Associate
Professor,
Nizhny Novgorod State Agrotechnological University,
97, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603107,
Russian Federation,
zajakyn1898@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4320-8410>

Elena K. Krutova,

Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Head of the Department,
Nizhny Novgorod State Agrotechnological University,
97, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603107,
Russian Federation,
elena.krutova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0456-7923>

Вклад авторов

С.С. Тарасов – разработка концепции, разработка методологии, формальный анализ, проведение исследования, предоставление ресурсов, разработка программного обеспечения, валидация результатов, визуализация, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.
Е.В. Михалев – формальный анализ, предоставление ресурсов, научное руководство, валидация результатов, редактирование рукописи.

Е.К. Крутова – курирование данных, формальный анализ, получение финансирования, административное руководство исследовательским проектом, предоставление ресурсов, научное руководство, валидация результатов, редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 05.10.2024.
Одобрена после рецензирования 28.02.2025.
Принята к публикации 03.09.2025.

Contribution of the authors

Sergei S. Tarasov – conceptualization, methodology, formal analysis, investigation, resources, software, validation, visualization, writing – original draft, editing.

Evgeny V. Mikhalev – formal analysis, resources, supervision, validation, editing.

Elena K. Krutova – data curation, formal analysis, funding acquisition, project administration, resources, supervision, validation, editing.

Conflict of interest

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 05.10.2024.
Approved after reviewing 28.02.2025.
Accepted for publication 03.09.2025.

Научная статья
УДК 579.26
EDN: YKXMIQ
DOI: 10.21285/achb.988



Исследование антагонистической активности грибных симбионтов черного трюфеля

Н.А. Имидоева✉, Е.В. Малыгина, А.Ю. Бельшенко, Т.Н. Вавилина,
В.Н. Шелковникова, М.Е. Дмитриева, М.М. Моргунова, Т.Ю. Тельнова,
А.А. Баталова, Д.В. Аксёнов-Грибанов

Иркутский государственный университет, Иркутск, Российская Федерация

Аннотация. В последние десятилетия интерес к черным трюфелям значительно возрос благодаря их гастрономическим свойствам, высокой пищевой ценности и потенциальным лечебным свойствам. Важную роль в формировании специфического аромата и питательной ценности этих грибов играют сообщества микроорганизмов, населяющих плодовые тела трюфелей. Целями данного исследования являлись выделение чистых культур культивируемых грибных симбионтов, оценка их взаимного антагонизма и предположение экологической роли. В ходе эксперимента были собраны плодовые тела черных трюфелей, из которых выделены чистые культуры грибных симбионтов. В результате идентифицированы восемь грибных штаммов. Антагонистические свойства полученных штаммов оценивали с использованием метода лунок. Шесть из восьми штаммов продемонстрировали антагонистическую активность. Наибольшую активность проявил штамм *Fusarium* sp. LPB2023712, который подавлял рост шести других штаммов с максимальной зоной ингибирования $\pm 3,3$ см. Также значительную активность показали штаммы *Trichothecium* sp. и *Hurophichia* sp., ингибировавшие рост *Clonostachys* sp. и *Penicillium* sp. Полученные результаты свидетельствуют о важной роли грибных симбионтов в экологии трюфелей, включая их способность регулировать микробное сообщество и подавлять развитие патогенов в плодовых телах. Штамм *Fusarium* sp. LPB2023712 продемонстрировал потенциал в качестве агента биоконтроля, что открывает новые возможности для поиска биологически активных соединений и разработки методов повышения устойчивости трюфелей к заболеваниям. Данное исследование подчеркивает необходимость дальнейшего изучения трюфелей и ассоциированных с ними микроорганизмов для более глубокого понимания их экологических функций, взаимодействий и практического применения в сельском хозяйстве и биотехнологиях.

Ключевые слова: трюфель, черный трюфель, симбионты, биоразнообразие, *Tuber* sp.

Финансирование. Исследование проведено при поддержке Российского научного фонда, проект № 22-76-10036.

Для цитирования: Имидоева Н.А., Малыгина Е.В., Бельшенко А.Ю., Вавилина Т.Н., Шелковникова В.Н., Дмитриева М.Е. [и др.]. Исследование антагонистической активности грибных симбионтов черного трюфеля // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 370–376. DOI: 10.21285/achb.988. EDN: YKXMIQ.

Antagonistic activity of fungal symbionts associated with black truffle

Natalia A. Imidoeva✉, Ekaterina V. Malygina, Aleksandr Yu. Belyshenko, Tatyana N. Vavilina, Victoria N. Shelkovnikova, Maria E. Dmitrieva, Maria M. Morgunova, Tamara Yu. Telnova, Anna A. Batalova, Denis V. Axenov-Gribanov

Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. Recent decades have seen increased interest in black truffles due to their gastronomic properties, high nutritional value, and potential medicinal properties. An important contribution to the specific aroma and nutritional value of these fungi is made by the community of microorganisms that inhabit truffle fruiting bodies. The present study aims to isolate pure cultures of cultivated fungal symbionts, assess their mutual antagonism, and consider their ecological role. The experiment involved collecting the fruiting bodies of the black truffle, which were used to isolate pure cultures of fungal symbionts. As a result, eight fungal strains were identified. The antagonistic properties of the obtained strains were evaluated using the agar-well method. Six of the eight strains exhibited antagonistic activity. The highest activity was exhibited by the *Fusarium* sp. strain LPB2023712, which inhibited the growth of six other strains with the maximum inhibition zone of ± 3.3 cm. Also, significant activity was observed in the strains of *Trichothecium* sp. and *Hypopichia* sp., which inhibited the growth of *Clonostachys* sp. and *Penicillium* sp. The obtained results indicate the important role of fungal symbionts in the ecology of truffles, including their ability to regulate the microbial community and inhibit the development of pathogens in fruiting bodies. The *Fusarium* sp. strain LPB2023712 demonstrated potential to serve as a biocontrol agent, which opens up new opportunities to find biologically active compounds and develop methods for improving the resistance of truffles to disease. This study emphasizes the need for further research on truffles and associated microorganisms to gain a deeper understanding of their ecological functions, interactions, and practical applications in agriculture and biotechnology.

Keywords: truffle, black truffle, symbionts, biodiversity, *Tuber* sp.

Funding. The Russian Science Foundation (project no. 22-76-10036) financially supported the work.

For citation: Imidoeva N.A., Malygina E.V., Belyshenko A.Yu., Vavilina T.N., Shelkovnikova V.N., Dmitrieva M.E., et al. Antagonistic activity of fungal symbionts associated with black truffle. Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2025;15(3):370-376. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.988. EDN: YKXMIQ.

ВВЕДЕНИЕ

Трюфельные грибы (*Tuber* sp.) являются аскомицетами, плодовые тела которых обычно растут в почве и в ассоциации с корнями определенных пород деревьев, таких как дуб, граб, лесной орех и сосна [1]. Внутри плодового тела трюфеля находится разнообразное симбиотическое сообщество микроорганизмов, включая бактерии, дрожжи и нитевидные грибы [2]. Эти микроорганизмы играют большую роль в формировании специфического аромата, вкуса и питательной ценности трюфеля [3]. Помимо аромата, трюфели являются источником питательных веществ. В составе трюфеля, как правило, преобладают белки и углеводы [4]. Кроме того, трюфели богаты минералами, клетчаткой, незаменимыми аминокислотами, жирными кислотами и полезными жирами [5]. Помимо этого, трюфельные грибы содержат широкий спектр биологически активных соединений, таких как аскорбиновая кислота, эргостерин, фенолы, флавоноиды и др. [6, 7].

Таким образом, биотехнологический потенциал трюфелей огромен, а разнообразие микроорганизмов, вступающих в ассоциации с трюфельными грибами, делает

их перспективным источником для поиска продуцентов биологических молекул с новыми терапевтическими эффектами [8]. Вторичные метаболиты данных микроорганизмов в дальнейшем могут использоваться как в медицине, так и в биотехнологии [5, 9].

Целью данного исследования являлись выделение чистых культур культивируемых грибных симбионтов *Tuber macrosporum*, оценка антагонистических характеристик и предположение их экологической роли.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для проведения экспериментов черные трюфельные грибы вида *T. macrosporum*, собранные в Краснодарском крае, были доставлены в г. Иркутск посредством авиасообщения. Для предотвращения порчи грибов во время транспортировки соблюдали температурный режим от 6 до 10 °C. Далее в лабораторных условиях грибы очищали и промывали проточной водой.

Для выделения культивируемых грибных симбионтов черного трюфеля грибы стерилизовали, помещая плодовые тела в 70%-й этиловый спирт, и обжигали. Затем стерильным скальпелем гриб разрезали по периметру, после чего его разламывали и вырезали центральный

участок почвы, к которому добавляли ТЕ-буфер (10 мМ Трис-НСl, 1 мМ ЭДТА) [10]. Полученные образцы почвы подвергались гомогенизации с помощью лабораторного вибрационного измельчителя БАБРх1 (НПК «Микотех», Россия) посредством интенсивного встряхивания со стальными шарами при 3000 об/мин. Далее образцы полученного гомогената были посеяны газоном на твердые питательные среды, такие как солодовый (солодовый экстракт – 20 г/л, глюкоза – 20 г/л, пептон – 1 г, агар – 20 г/л) и картофельно-глюкозный (картофельный экстракт – 20 г/л, глюкоза – 50 г/л, пептон – 30 г/л, MgSO₄ – 5 г/л, K₂HPO₄ – 10 г/л, агар – 20 г/л) агар [11].

Для предотвращения контаминации симбионтными микроорганизмами в агаризованные среды были добавлены антибиотики цефтриаксон (25 мкг/100 мл) и фурацилин (спиртовой раствор 5%-й – 50 мкл/100 мл). Культивирование проводили в термостатируемых условиях (24 °С), после чего выделяли ДНК калий-ацетатным методом и проводили молекулярную идентификацию чистых грибных культур по генам ITS, включающим участок гена 18S рРНК. Полученные нуклеотидные последовательности были зарегистрированы в базе данных GenBank под номерами ON386020, PV249422, PV250043-PV250044, PV250095-PV250096, PV250178 и PV262402. Помимо этого, выделенные в чистую

культуру грибные штаммы депонированы в Сетевой биоресурсной коллекции в области генетических технологий для сельского хозяйства, г. Санкт-Петербург (RCAM06826 – RCAM06829, RCAM06902, RCAM06903).

Для определения экологической роли грибных симбионтов трюфельных грибов и оценки их взаимных антагонистических взаимодействий был использован метод лунок [12]. Для этого в твердой питательной среде Сабуро на чашке Петри, предварительно газоном засеянной культурой тест-штамма, с помощью горлышка пластиковой 5-миллилитровой пробирки были вырезаны лунки диаметром 1,5 см. В лунки добавляли 250 мкл той же твердой питательной среды во избежание роста тест-культур по дну чашки Петри. В это же время тестируемые штаммы были смешаны с мягким агаром Сабуро и добавлены в количестве 500 мкл в вышеупомянутые лунки. Далее чашку Петри выдерживали при комнатной температуре в ламинарном боксе в течение 30 мин, затем помещали в термостат при температуре 24 °С на неделю. По истечении этого времени измеряли зону ингибирования роста тест-штамма вокруг лунки.

Статистический анализ полученных результатов был проведен с использованием U-критерия Манна – Уитни. Для оценки статистической значимости использовали уровень $p < 0,05$. Анализ проводили в программе Past 4.10.

Оценка антагонистической активности грибных симбионтов трюфельных грибов

Assessment of antagonistic properties of truffle-associated fungal symbionts

Номер штамма, посеянного газоном	Антагонистические свойства штаммов, инокулированных в лунки (зона ингибирования роста, см)							
	<i>Fusarium</i> sp. LPB2023712	<i>Trichothecium</i> sp. LPB202384	<i>Clonostachys</i> sp. LPB202216	<i>Clonostachys</i> sp. LPB2022F2	<i>Hypopichia</i> sp. LPB20231221	<i>Hypopichia</i> sp. LPB2023122	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. LPB2023411	<i>Penicillium</i> sp. LPB2023F1
<i>Fusarium</i> sp. LPB2023712	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trichothecium</i> sp. LPB202384	2,3±0,08	-	-	-	-	1,8±0,24	-	-
<i>Clonostachys</i> sp. LPB202216	2,5±0,23	2,5±0,49	-	-	-	-	-	2,3
<i>Clonostachys</i> sp. LPB2023F2	3,0±0,04	2,8±0,28	-	-	2,0±0,20	2,3±0,16	-	-
<i>Hypopichia</i> sp. LPB20231221	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hypopichia</i> sp. LPB2023122	2,2±0,12	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudogymnoascus</i> sp. LPB2023411	2,2±0,36	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp. LPB2023F1	3,3±0,17	-	3,7±0,20	-	2,0±0,09	-	2,3±0,08	-

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе проведенных работ выделены чистые культуры грибных симбионтов трюфельных грибов, ассоциированные с их плодовыми телами. Восемь штаммов, выделенных в ходе исследования ассоциантов *Tuber macrosporum*, были идентифицированы как мицелиальные грибы, принадлежащие к родам *Trichothecium* sp., *Fusarium* sp., *Clonostachys* sp. (два штамма), *Hyphopichia* sp. (два штамма), *Pseudogymnoascus* sp., *Penicillium* sp. Результаты эксперимента, приведенные в таблице, показали сложную систему взаимного антагонизма между различными представителями грибного сообщества трюфель. Из исследованных восьми штаммов грибных симбионтов черных трюфельных грибов только у шести наблюдался антагонистический эффект. В остальных случаях грибная культура, посеянная газоном, угнетала рост грибных штаммов, инокулированных в лунки.

Наибольшую перекрестную антагонистическую активность проявил штамм *Fusarium* sp. LPB2023712, так как он подавлял рост шести иных штаммов, выделенных из черного трюфеля. Максимальная зона ингибирования данным штаммом составляла $\pm 3,3$ см (рисунок). Штамм *Trichothecium* sp. LPB202384 ингибировал рост *Clonostachys* sp. LPB202216 и *Clonostachys* sp. LPB2023F2 со средним значением диаметра зоны подавления $\pm 2,7$ см. Максимальная зона ингибирования среди всех исследуемых грибов наблюдалась у *Clonostachys* sp. LPB202216 против штамма *Penicillium* sp. LPB2023F1 и составляла $\pm 3,7$ см в диаметре. *Hyphopichia* sp. LPB20231221 подавлял рост *Clonostachys* sp. LPB2023F2 и *Penicillium* sp. LPB2023F1. Штамм *Hyphopichia* sp. LPB20231222 проявил активность в отношении *Trichothecium* sp. LPB202384 и *Clonostachys* sp. LPB2023F2. Стоит отметить, что штамм *Clonostachys* sp. LPB2022F2, инокулированный в лунки, не проявил антагонистических свойств.



Антагонистическая активность штамма *Fusarium* sp. LPB2023712 против *Penicillium* sp. LPB2023F1 (диаметр лунки – 1,5 см)

Antagonistic activity of *Fusarium* sp. LPB2023712 against *Penicillium* sp. LPB2023F1 (well diameter – 1.5 cm)

В ходе проведенного исследования из проб, полученных после гомогенизации, были выделены как хорошо изученные в научной литературе представители родов *Trichothecium* sp., *Fusarium* sp., *Clonostachys* sp., *Penicillium* sp., так и менее исследованные представители родов *Pseudogymnoascus* sp. и *Hyphopichia* sp.

Согласно анализу литературы, *Trichothecium roseum* является фитопатогеном и был ранее выделен из трюфельоподобных грибов из Китая [3].

Гриб *Fusarium* sp. является широко распространенным почвенным микроорганизмом, который может выступать в различных экологических ролях – как сапротроф, фитопатоген и эндофит грибов и растений [13]. В нашем исследовании штамм *Fusarium* sp. LPB2023712 обладал абсолютными антагонистическими свойствами по отношению к другим выделенным грибным штаммам. В связи с этим можно предположить, что данный гриб может регулировать количество и разнообразие грибных симбионтов внутри плодовых тел трюфеля, тем самым способствуя формированию благоприятного микробиома [14].

Clonostachys sp. является микопаразитарным грибом и используется в качестве агента биологического контроля фитопатогенных грибов [15, 16]. Исследования, проведенные М. Леонарди и его коллегами в 2018 году, подтверждают его распространенность. В ходе работ 58,6% образцов грибов *Tuber*, наблюдаемых в процессе полевых исследований, были идентифицированы как *Clonostachys rosea*. Эти данные подчеркивают потенциальное значение грибов рода *Clonostachys* не только как симбионта трюфель, но и как естественного средства борьбы с грибковыми инфекциями, что может иметь важные последствия для устойчивого культивирования трюфель [17].

Дрожжи рода *Hyphopichia* sp. широко распространены в природе и играют важную роль в биологии трюфель. Они участвуют в процессе накопления и передачи веществ, а также служат источником питания для самого гриба [18, 19].

Почвенные грибы рода *Pseudogymnoascus* sp. находятся в местах произрастания трюфельных грибов. Их присутствие в микробном сообществе трюфель может быть связано с участием в деградации органических веществ, что способствует улучшению почвенных условий для роста и развития трюфель [20].

Использование метода лунок позволило оценить антагонистическую активность грибных симбионтов черного трюфеля, выявив доминирующую роль *Fusarium* sp. В то же время данный подход не позволил полноценно оценить вклад других симбионтов. Данный факт подчеркивает необходимость применения дополнительных методов для более полного понимания взаимодействий в микробном сообществе трюфель.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования демонстрируют сложность и многообразие грибных симбионтов, ассоциированных с черными трюфелями. Исследование выявило, что шесть из восьми грибных симбионтов трюфеля продемонстрировали антагонистическую активность. Наиболее выраженные антагонистические свойства проявил штамм *Fusarium* sp. LPB2023712, который может стать перспективным объектом для дальнейших исследований.

Результаты работы открывают новые возможности для поиска биологически активных соединений, что подчеркивает важность изучения плодовых тел трюфелей и ассоциированных с ними микроорганизмов. Учитывая потенциал трюфелей как источника полезных веществ, дальнейшие исследования могут проводиться с целью

разработки новых биотехнологий и терапевтических приложений, что имеет значение как для медицины, так и для сельского хозяйства. Таким образом, исследование представляет собой важный вклад в понимание ролей, которые грибные симбионты играют в экосистемах и в биотехнологическом контексте.

REFERENCES

1. Wilgan R. High species diversity but low specificity to ectomycorrhizal tree partners exhibited by native truffle species (*Tuber* spp., Pezizales) in Poland, Central Europe. *Forests*. 2023;14(12):2407. DOI: 10.3390/f14122407.
2. Zambonelli A., Iotti M., Murat C. True truffle (*Tuber* spp.) in the world. Cham: Springer; 2016, 436 p. DOI: 10.1007/978-3-319-31436-5.
3. Splivallo R., Ottonello S., Mello A., Karlovsky P. Truffle volatiles: from chemical ecology to aroma biosynthesis. *New Phytologist*. 2011;89(3):688-699. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2010.03523.x.
4. Saltarelli R., Ceccaroli P., Cesari P., Barbieri E., Stocchi V. Effect of storage on biochemical and microbiological parameters of edible truffle species. *Food Chemistry*. 2008;109(1):8-16. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.11.075.
5. Lee H., Nam K., Zahra Z., Farooqi M.Q.U. Potentials of truffles in nutritional and medicinal applications: a review. *Fungal Biology and Biotechnology*. 2020;7:9. DOI: 10.1186/s40694-020-00097-x.
6. Kaya Y., Akcura M. Effects of genotype and environment on grain yield and quality traits in bread wheat (*T. aestivum* L.). *Food Science and Technology*. 2014;34(2):386-393. DOI: 10.1590/fst.2014.0041.
7. Shah N., Usvalampi A., Chaudhary S., Seppänen-Laakso T., Marathe S., Bankar S., et al. An investigation on changes in composition and antioxidant potential of mature and immature summer truffle (*Tuber aestivum*). *European Food Research and Technology*. 2020;246:723-731. DOI: 10.1007/s00217-020-03438-7.
8. Pavić A., Stanković S., Saljnikov E., Krüger D., Buscot F., Tarkka M., et al. Actinobacteria may influence white truffle (*Tuber magnatum* Pico) nutrition, ascocarp degradation and interactions with other soil fungi. *Fungal Ecology*. 2013;6(6):527-538. DOI: 10.1016/j.funeco.2013.05.006.
9. Leonardi M., Iotti M., Pacioni G., Hall I.R., Zambonelli A. Truffles: biodiversity, ecological significances, and biotechnological applications. In: Abdel-Azeem A.M., Yadav A.N., Yadav N., Usmani Z. (eds). *Industrially Important Fungi for Sustainable Development*. *Fungal Biology*. Springer: Cham; 2021, p. 107-146. DOI: 10.1007/978-3-030-67561-5_4.
10. Delong R.K., Zhou Q. Experiment 2 - Preparing buffers at a specific molarity and pH. In: *Introductory Experiments on Biomolecules and their Interactions*. Academic Press, 2015, p. 13-19. DOI: 10.1016/B978-0-12-800969-7.00002-5.
11. Black W.D. A comparison of several media types and basic techniques used to assess outdoor airborne fungi in Melbourne, Australia. *PLOS One*. 2020;15(12):e0238901. DOI: 10.1371/journal.pone.0238901.
12. Magaldi S., Mata-Essayag S., de Capriles C.H., Perez C., Colella M.T., Olaizola C., et al. Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *International Journal of Infectious Diseases*. 2004;8(1):39-45. DOI: 10.1016/j.ijid.2003.03.002.
13. Mohamed A.H., El-Megeed F.H.A., Hassanein N.M., Youseif S.H., Farag P.F., Saleh S.A., et al. Native rhizospheric and endophytic fungi as sustainable sources of plant growth promoting traits to improve wheat growth under low nitrogen input. *Journal of Fungi*. 2022;8(2):94. DOI: 10.3390/jof8020094.
14. Zvonarev A., Terentyev V., Zhelifonova V., Antipova T., Baskunov B., Avtukh A., et al. Phytotoxic strains of *Fusarium commune* isolated from truffles. *Journal of Fungi*. 2024;10(7):463. DOI: 10.3390/jof10070463.
15. Sun Z.-B., Li S.-D., Ren Q., Xu J.-L., Lu X., Sun M.-H. Biology and applications of *Clonostachys rosea*. *Journal of Applied Microbiology*. 2020;129(3):486-495. DOI: 10.1111/jam.14625.
16. Rennick B., Benucci G.M.N., Du Z.-Y., Healy R., Bonito G. *Tuber rugosum*, a new species from northeastern North America: slug mycophagy aids in electron microscopy of ascospores. *Mycologia*. 2023;115(3):340-356. DOI: 10.1080/00275514.2023.2184983.
17. Leonardi M., Ascione S., Pacioni G., Cesare P., Pacioni M.L., Miranda M., et al. The challenge for identifying the fungi living inside mushrooms: the case of truffle inhabiting mycelia. *Plant Biosystems*. 2018;152(5):1002-1010. DOI: 10.1080/11263504.2017.1407373.
18. Ren Y.-C., Liu S.-T., Li Y., Hui F.-L. *Pichia dushanensis* sp. nov. and *Hyphopichia paragoi* sp. nov., two sexual yeast species associated with insects and rotten wood. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2015;65:2875-2881. DOI: 10.1099/ij.s.0.000349.
19. Lee D.W., Hong C.P., Thak E.J., Park S.-G., Lee C.H., Lim J.Y., et al. Integrated genomic and transcriptomic analysis reveals unique mechanisms for high osmotolerance and halotolerance in *Hyphopichia* yeast. *Environmental Microbiology*. 2021;23(7):3499-3522. DOI: 10.1111/1462-2920.15464.
20. Sánchez-Ledesma J.A., Guevara-Guerrero G., Garibay-Orijel R., Ángeles-Argáiz R., Ávila-Rodríguez V., Arreola-Ávila J.G., et al. *Tuber caryophilum*, a new truffle species growing in *Carya illinoensis* orchards. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 2022;93:e934893. DOI: 10.22201/ib.20078706e.2022.93.4893.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Имидоева Наталья Александровна,
младший научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
✉ nat.imidoeva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6327-5517>

Малыгина Екатерина Владимировна,
научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
cat.malygina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-2673-0226>

Бельшенко Александр Юрьевич,
научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
al.belyshenko@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8812-2250>

Вавилина Татьяна Николаевна,
студент,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
t.vavilina03@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0001-9725-9523>

Шелковникова Виктория Николаевна,
младший научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
shelkovnikova551@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4411-7521>

Дмитриева Мария Егоровна,
научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1,
Российская Федерация,
marrie.dmitrieva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9229-1954>

Моргунова Мария Михайловна,
научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
marymikhmorg@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-7939-1432>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Natalia A. Imidoeva,
Junior Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
✉ nat.imidoeva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6327-5517>

Ekaterina V. Malygina,
Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
cat.malygina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-2673-0226>

Aleksandr Yu. Belyshenko,
Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
al.belyshenko@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8812-2250>

Tatyana N. Vavilina,
Student,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
t.vavilina03@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0001-9725-9523>

Victoria N. Shelkovnikova,
Junior Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
shelkovnikova551@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4411-7521>

Maria E. Dmitrieva,
Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
marrie.dmitrieva@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9229-1954>

Maria M. Morgunova,
Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
marymikhmorg@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-7939-1432>

Тельнова Тамара Юрьевна,
младший научный сотрудник,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1,
Российская Федерация,
telnovatamara1410@gmail.com <https://orcid.org/0000-0003-2606-3766>

Баталова Анна Александровна,
студент,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
ann.batalovaa@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0007-1343-4544>

Аксёнов-Грибанов Денис Викторович,
к.б.н., доцент,
Иркутский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
denis.axengri@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2020-6084>

Вклад авторов

Н.А. Имидоева – проведение исследования, валидация результатов, написание черновика рукописи.
Е.В. Малыгина – курирование данных.
А.Ю. Бельшенко – проведение исследования.
Т.Н. Вавилина – проведение исследования.
В.Н. Шелковникова – формальный анализ.
М.Е. Дмитриева – курирование данных.
М.М. Моргунова – формальный анализ.
Т.Ю. Тельнова – формальный анализ.
А.А. Баталова – формальный анализ.
Д.В. Аксёнов-Грибанов – научное руководство, предоставление ресурсов, редактирование текста статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 27.03.2025.
Одобрена после рецензирования 16.05.2025.
Принята к публикации 25.08.2025.

Tamara Yu. Telnova,
Junior Researcher,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
telnovatamara1410@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2606-3766>

Anna A. Batalova,
Student,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
ann.batalovaa@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0007-1343-4544>

Denis V. Axenov-Gribanov,
Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Irkutsk State University,
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
denis.axengri@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2020-6084>

Contribution of the authors

Natalia A. Imidoeva – investigation, validation, writing – original draft.
Ekaterina V. Malygina – data curation.
Aleksandr Yu. Belyshenko – investigation.
Tatyana N. Vavilina – investigation.
Victoria N. Shelkovnikova – formal analysis.
Maria E. Dmitrieva – data curation.
Maria M. Morgunova – formal analysis.
Tamara Yu. Telnova – formal analysis.
Anna A. Batalova – formal analysis.
Denis V. Axenov-Gribanov – supervision, resources, editing.

Conflict of interest

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 27.03.2025.
Approved after reviewing 16.05.2025.
Accepted for publication 25.08.2025.

Научная статья
УДК 677.01
EDN: CNEEDU
DOI: 10.21285/achb.985



Исследование свойств нетканых материалов, модифицированных раствором хитозана

Р.Ю. Галимзянова✉, Е.В. Перушкина, М.С. Лисаневич, Е. Али

Казанский национальный исследовательский технологический университет,
Казань, Российская Федерация

Аннотация. Модификация нетканых материалов с целью придания им антибактериальных свойств является важным процессом для изготовления широкого спектра изделий медицинского назначения – медицинских масок, раневых повязок, операционного белья и т.д. Однако кроме антибактериальных свойств представляет интерес влияние модификации на потребительские свойства нетканого материала. Целью проведенного исследования являлось изучение потребительских и антибактериальных свойств нетканого материала, модифицированного хитозаном. Кроме того, что хитозан имеет антибактериальную активность, он также является биосовместимым гидрофильным полимером. В ходе работы были изучены четыре промышленные марки хитозана: хитозан Premium Quality (Италия), хитозан пищевой кислоторастворимый, сукцинат хитозана, хитозан низкомолекулярный пищевой водорастворимый (Россия). В результате проведенных исследований установлено, что из изученных марок хитозана антибактериальной активностью обладают хитозан пищевой кислоторастворимый и хитозан Premium Quality. Обработка гидрофильного нетканого материала, полученного по технологии спанбонд, раствором хитозана приводит к уменьшению воздухопроницаемости на 19% и увеличению жесткости на 77%. В случае применения концентраций раствора хитозана до 0,2% паропроницаемость растет, дальнейшее же увеличение концентрации приводит к снижению данного показателя. Гигроскопичность в изученном диапазоне дозировок не меняется. Результаты исследования свидетельствуют о нецелесообразности пропитки нетканых материалов медицинского назначения раствором хитозана с концентрацией более 0,2%, поскольку при более высоких концентрациях раствора потребительские характеристики (воздухопроницаемость и паропроницаемость) модифицированного нетканого материала ухудшаются.

Ключевые слова: нетканый материал, хитозан, паропроницаемость, жесткость, антибактериальные свойства, гигроскопичность, воздухопроницаемость

Для цитирования: Галимзянова Р.Ю., Перушкина Е.В., Лисаневич М.С., Али Е. Исследование свойств нетканых материалов, модифицированных раствором хитозана // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 377–384. DOI: 10.21285/achb.985. EDN: CNEEDU.

PHYSICO-CHEMICAL BIOLOGY

Original article

Properties of nonwoven fabric modified with chitosan solution

Rezeda Yu. Galimzyanova✉, Elena V. Perushkina, Maria S. Lisanevich, Edres Ali

Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation

Abstract. The modification of nonwoven fabrics designed to impart antibacterial properties is an important process in the manufacture of a wide range of medical products, including medical face masks, wound dressings, surgical drapes, etc. However, apart from antibacterial properties, the effect of modification on the consumer properties of nonwoven fabric is also of interest. The present study was aimed at examining the consumer and antibacterial properties of nonwoven fabric modified with chitosan. In addition to exhibiting antibacterial activity, chitosan is also a biocompatible hydrophilic polymer. In this study, four industrial grades of chitosan were examined: Premium Quality chitosan (Italy), food-grade acid-soluble chitosan, chitosan succinate, and low-molecular-weight food-grade water-soluble chitosan (Russia). It was found that of

the studied chitosan grades, food-grade acid-soluble chitosan and Premium Quality chitosan exhibit antibacterial activity. The treatment of hydrophilic nonwoven fabric obtained using the spunbond technology with a chitosan solution leads to a decrease in air permeability by 19% and an increase in stiffness by 77%. When chitosan solution concentrations of up to 0.2% are used, vapor permeability increases; however, a further concentration increase leads to a decrease in this parameter. Within the analyzed range, the hygroscopicity does not change. The study results indicate the inexpediency of impregnating medical nonwoven fabrics with chitosan solution at concentrations higher than 0.2%, since at higher concentrations, the consumer properties (air and vapor permeability) of modified nonwoven fabric deteriorate.

Keywords: nonwoven fabric, chitosan, vapor permeability, stiffness, antibacterial properties, hygroscopicity, air permeability

For citation: Galimzyanova R.Yu., Perushkina E.V., Lisanevich M.S., Ali E. Properties of nonwoven fabric modified with chitosan solution. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):377-384. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.985. EDN: CNEEDU.

ВВЕДЕНИЕ

Нетканые материалы на основе полипропилена широко применяются для изготовления различных изделий медицинского назначения – раневых повязок, медицинских масок, хирургической одежды и белья. В связи с этим зачастую встает вопрос о придании такого рода материалам антибактериальных свойств [1–7].

В настоящее время внимание исследователей в качестве антибактериальной добавки привлекает хитозан. Антимикробное действие хитозана объясняется наличием положительно заряженной аминогруппы, которая взаимодействует с отрицательно заряженными мембранами микробных клеток, что приводит к утечке белковых и других внутриклеточных компонентов микроорганизмов. Кроме того, что хитозан имеет антибактериальную активность, он также является биосовместимым гидрофильным полимером [8].

Технология нанесения хитозана на нетканый материал на основе полипропилена в целом состоит из двух этапов. На первом этапе необходимо повысить гидрофильные свойства нетканого материала, который исходно по своей природе является гидрофобным. Для этих целей используют модификацию нетканого материала гидрофильными пропитками или, например, обработку неравновесной низкотемпературной плазмой и т.д. [9–11]. На втором этапе следует погрузить нетканый материал в водный раствор хитозана для нанесения биополимера. Таким образом получают модифицированные нетканые материалы, обладающие антибактериальными свойствами. Помимо этого, разрабатывают способы химической прививки хитозана к нетканым материалам различной природы.

В целом в научной литературе изучены различные технологии модификации нетканых материалов с использованием хитозана, также достаточно подробно изучены антибактериальные свойства модифицированных материалов [12–15]. Тем не менее нужно отметить, что нанесение хитозана сказывается на потребительских характеристиках нетканых материалов. В связи с этим целью данной работы является исследование свойств нетканого материала, модифицированного хитозаном, в том числе оценка потребительских характеристик материала.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для модификации нетканого материала были выбраны четыре промышленных марки хитозана:

– хитозан Premium Quality, производитель A&A Tratelli Parodi s.p.a., Италия;

– хитозан пищевой кислоторастворимый, ТУ 9289-067-00472124-03, номер партии 10;

– сукцинат хитозана, ТУ 9284-027-11734126-08, номер партии 77;

– хитозан низкомолекулярный пищевой водорастворимый, ТУ 9289-067-00472124-03, номер партии 10.

Производителем трех последних видов хитозана является ООО «Биопрогресс», Россия.

В качестве нетканого материала был выбран материал, полученный по фильерной технологии типа спанбонд с поверхностной плотностью 14 ± 2 г/см², обработанный гидрофильной пропиткой (производитель ООО «Завод Эластик», Россия). Такого рода нетканый материал может применяться для изготовления медицинских масок, раневых повязок, медицинских пеленок и салфеток.

Пропитку нетканого материала раствором хитозана проводили в течение 5 с. Затем образцы располагали на горизонтальной поверхности для высыхания при нормальных условиях.

Для оценки биологической активности растворов хитозана от различных производителей использовали метод определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) в отношении бактерий *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Антибактериальную активность хитозана исследовали *in vitro*, используя растворы хитозана на мясопептонном бульоне в различной концентрации [16–19]. В серию подготовленных пробирок для каждого опытного образца хитозана в стерильных условиях вносили 10% об. суспензии бактериальной культуры с концентрацией клеток $6,1 \times 10^7$ КОЕ/мл. Опытные системы культивировали на шейкер-инкубаторе при температуре 37 °С (180 об/мин) в течение 24 ч. В процессе роста тест-культур измеряли оптическую плотность суспензии при длине волны 600 нм. МИК хитозанов определяли по отсутствию роста культуры в пробирках с минимальной концентрацией вещества.

Антибактериальные свойства нетканых материалов, модифицированных растворами хитозана от различных производителей, в отношении культур *S. aureus* и *E. coli* оценивались диско-диффузионным методом согласно МУК 4.2.1890-04¹.

Были изучены следующие потребительские характеристики модифицированного нетканого материала: гигроскопичность, воздухопроницаемость, паропроницаемость, жесткость при изгибе.

¹МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 91 с.

Паропроницаемость определяли по ГОСТ Р 12.4.287-2013². Воздухопроницаемость определяли по ГОСТ ISO 9237-2013³ на приборе А0003-РС, перепад давления составлял 100 Па. Гигроскопичность определяли по ГОСТ Р 57876-2017⁴.

Для определения жесткости при изгибе использовали прибор ПТ-2, испытания проводились в соответствии с ГОСТ 10550-93⁵.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования антибактериальной активности изученных марок хитозана показали, что бактерии *S. aureus* более чувствительны к действующему веществу в составе торговых препаратов хитозан Premium Quality и хитозан пищевой кислоторастворимый (табл. 1). Для золотистого стафилококка наибольшей ингибирующей рост активностью обладает хитозан пищевой кислоторастворимый, для которого МИК составила 150 мкг/мл. Присутствие внешнего липополисахаридного слоя на поверхности клеточной стенки бактерий *E. coli* препятствует транспорту олигомерных молекул хитозана внутрь клетки, о чем свидетельствуют повышенные значения МИК для всех исследуемых веществ. Полученные экспериментальные результаты согласуются с данными исследований водорастворимых хитозанов с различной молекулярной массой, проведенных для различных видов бактерий, в том числе *S. aureus* и *E. coli* [16, 20].

Таблица 1. Минимальная ингибирующая концентрация, мкг/мл, хитозанов различных производителей в отношении бактерий *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*

Table 1. Minimum inhibitory concentration, $\mu\text{g/ml}$, of chitosans from different manufacturers against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria

Вид хитозана	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Сукцинат хитозана	1200	1200
Хитозан пищевой водорастворимый	900	1200
Хитозан Premium Quality	225	300
Хитозан пищевой кислоторастворимый	150	300

Технологически важным стало исследование роста бактерий в растворах с различной концентрацией действующего вещества двух торговых препаратов: хитозан пищевой кислоторастворимый (табл. 2) и хитозан Premium Quality (табл. 3). При культивировании *S. aureus* в течение 4 ч в контрольной питательной среде (0%) отмечена максимальная концентрация биомассы 0,675 опт.ед., ингибирование роста культуры отмечено при 0,0150%-й концентрации раствора пищевого хитозана и при

0,0225%-й концентрации Premium Quality. Вследствие этого указанные коммерческие препараты были выбраны для модификации нетканых материалов, а целью последующих исследований стала проверка сохранения антибактериальной активности вещества после стадий нанесения и высушивания изделий.

Таблица 2. Биомасса, опт. ед., бактерий *Staphylococcus aureus* в процессе культивирования в мясопептонном бульоне с различной концентрацией хитозана пищевого кислоторастворимого

Table 2. Biomass, opt. units, of *Staphylococcus aureus* bacteria during cultivation in meat-peptone broth with different concentrations of food grade chitosan acid-soluble

Концентрация раствора хитозана, %	Продолжительность культивирования, ч		
	0	2	4
0	0,120±0,001	0,358±0,001	0,675±0,001
0,0015	0,120±0,001	0,152±0,001	0,281±0,001
0,0075	0,120±0,001	0,132±0,001	0,208±0,001
0,0150	0,120±0,001	0,120±0,001	0,120±0,001

Таблица 3. Биомасса, опт. ед., бактерий *Staphylococcus aureus* в процессе культивирования в мясопептонном бульоне с различной концентрацией хитозана Premium Quality

Table 3. Biomass, opt. units, of *Staphylococcus aureus* bacteria during cultivation in meat-peptone broth with different concentrations of chitosan Premium Quality

Концентрация раствора хитозана, %	Продолжительность культивирования, ч		
	0	2	4
0	0,122±0,001	0,358±0,001	0,675±0,001
0,0015	0,122±0,001	0,147±0,001	0,247±0,001
0,0075	0,122±0,001	0,142±0,001	0,229±0,001
0,0150	0,122±0,001	0,125±0,001	0,220±0,001
0,0225	0,122±0,001	0,122±0,001	0,122±0,001

Исходя из выполненных предварительных расчетов остаточного содержания олигомерных молекул хитозана в составе нетканого материала при технологическом режиме его производства, для пропитывания были выбраны 0,3%-й и 0,6%-й растворы торговых препаратов хитозана. Результаты диско-диффузионного исследования не выявили взаимосвязи концентрации раствора хитозана и антибактериальных свойств модифицированных нетканых материалов. В то же время при увеличении продолжительности обработки образцов в растворе хитозанов в 2 раза отмечено 5%-е повышение антибактериальной активности материала. Таким образом, 0,3%-й раствор хитозана является достаточной концентрацией для достижения антибактериального эффекта при обработке нетканого материала.

²ГОСТ Р 12.4.287-2013. Система стандартов безопасности труда. Одежда специальная для защиты от химических веществ. Метод определения паропроницаемости мембранных материалов и швов. М.: Стандартинформ, 2014. 11 с.

³ГОСТ ISO 9237-2013. Материалы текстильные. Метод определения воздухопроницаемости. М.: Стандартинформ, 2014. 12 с.

⁴ГОСТ Р 57876-2017. Материалы текстильные. Метод определения гигроскопичности. М.: Стандартинформ, 2017. 7 с.

⁵ГОСТ 10550-93. Материалы текстильные. Полотна. Методы определения жесткости при изгибе. Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 1995. 12 с.

Наибольший антимикробный эффект проявляет хитозан пищевой кислоторастворимый. Для двух коммерческих препаратов хитозана наблюдается зона задержки роста бактерий 10 мм, что говорит о возможности применения хитозана для создания антибактериальных материалов медицинского назначения, выполненных на нетканой основе (табл. 4).

Таблица 4. Диаметр зоны задержки роста, мм, бактерий *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* для образцов нетканых материалов, пропитанных 0,3%-м раствором различных коммерческих препаратов хитозана

Table 4. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* growth inhibition zones for nonwoven samples impregnated with 0.3% solution of various commercial chitosan preparations

Вид хитозана	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Сукцинат хитозана	Отсутствует	Отсутствует
Хитозан пищевой водорастворимый	Отсутствует	Отсутствует
Хитозан Premium Quality	11,1±0,9	Отсутствует
Хитозан пищевой кислоторастворимый	10,3±1,0	10,1±0,8

Для оценки потребительских свойств нетканых материалов после модификации были изучены следующие показатели: гигроскопичность, воздухопроницаемость, паропроницаемость, жесткость при изгибе.

Одной из существенных характеристик нетканых материалов является воздухопроницаемость. Этот показатель важен для медицинской одежды и белья, а также медицинских масок и характеризует, насколько нетканый материал обеспечивает нормальный воздухообмен организма человека с окружающей средой. Другим важным показателем является паропроницаемость, которая характеризует сопротивление материалов испарению влаги от тела человека. Контроль данного показателя позволяет предотвратить парниковый эффект при использовании хирургических халатов и масок, а также раневых повязок.

На рис. 1 представлено изменение воздухопроницаемости и паропроницаемости нетканого материала в зависимости от концентрации раствора хитозана.

После пропитки и с увеличением концентрации раствора хитозана воздухопроницаемость нетканого материала линейно уменьшается. При пропитке 0,4%-м раствором хитозана воздухопроницаемость снижается на 20%. Это связано с тем, что биополимер оседает в порах нетканого материала, тем самым затрудняя прохождение воздушного потока.

Паропроницаемость нетканого материала после обработки раствором хитозана и с увеличением его концентрации, напротив, увеличивается, причем увеличивается достаточно сильно – на 25% для нетканого материала, обработанного 0,2%-м раствором хитозана. Однако при концентрации раствора более 0,3% значения паропроницаемости начинают снижаться. По-видимому, пропитка нетканого материала раствором хитозана до определенной концентрации (до 0,2%) не приводит к закупорке пор, а, наоборот, способствует транспортированию пара через материал. Можно предположить,

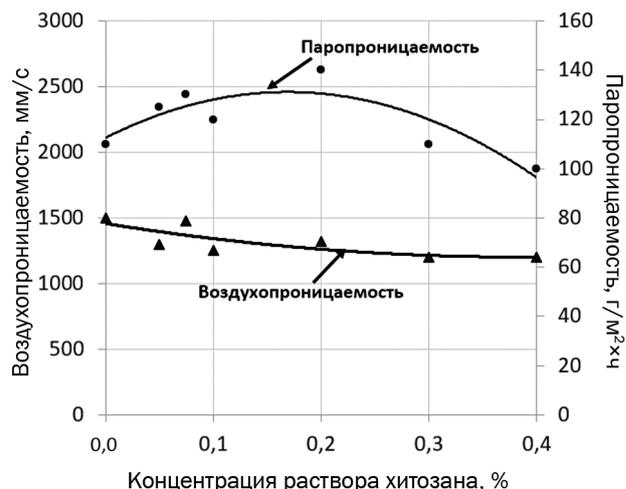


Рис. 1. Зависимость воздухопроницаемости и паропроницаемости модифицированного нетканого материала от концентраций раствора хитозана

Fig. 1. Air permeability and vapor permeability of modified nonwoven material versus concentrations of chitosan solution

что раствор хитозана в небольших концентрациях не закупоривает поры нетканого материала, а обволакивает волокна. С одной стороны, это приводит к уменьшению размера пор, поэтому снижается воздухопроницаемость, с другой стороны, поверхность волокон становится более гидрофильной, благодаря этому, по-видимому, повышается перенос пара через материал.

При модификации нетканого материала более концентрированным раствором хитозан образует пленку, поры закрываются и паропроницаемость снижается.

Для раневых повязок важным показателем является гигроскопичность – способность материала изменять свою влажность в зависимости от влажности и температуры окружающей среды. Скорость поглощения и отдачи влаги зависит не только от гигроскопичности волокон, но и от структуры материала. Чем меньше поверхностная плотность и толщина нетканого материала, тем быстрее он впитывает и отдает влагу и тем лучше обеспечивается постоянство влажности и тепла на коже человека. На рис. 2 представлены изменения значений гигроскопичности испытываемого образца в зависимости от различной концентрации раствора хитозана. Нужно отметить, что в изученном диапазоне концентраций пропитываемого раствора значимых изменения гигроскопичности нетканого материала не обнаружено.

Была изучена также жесткость нетканого материала при изгибе – способность материала сопротивляться изменению формы при действии внешней изгибающей силы. Жесткость текстильных материалов определяет назначение материала, модельные и конструктивные особенности одежды, технологию ее изготовления. Одежда из жестких материалов создает дискомфорт, затрудняет движения. Это касается и медицинских изделий, соприкасающихся с кожей человека. Таким образом, чем меньше жесткость при изгибе нетканого материала, тем лучше для потребителя. На рис. 2 представлено изменение жесткости при изгибе нетканого материала в зависимости от концентрации

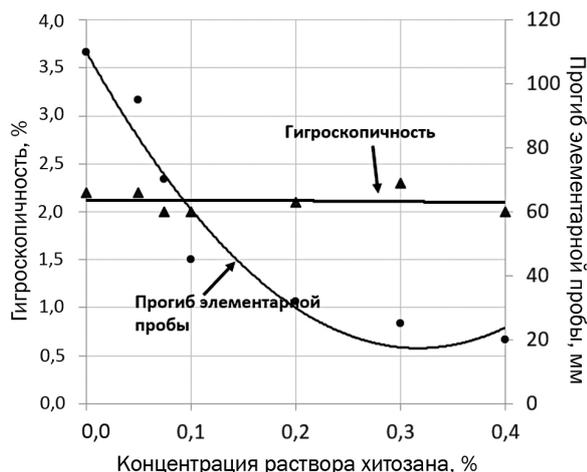


Рис. 2. Зависимость изменения гигроскопичности и жесткости (прогиб элементарной пробы) модифицированного нетканого материала от различных концентраций раствора хитозана

Fig. 2. Change in hygroscopicity and rigidity (deflection of an elementary sample) of the modified nonwoven material versus concentrations of the chitosan solution

пропитывающего раствора. Представленные результаты говорят о существенном уменьшении прогиба элементарной пробы, соответственно, жесткость увеличивается на 77%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что из изученных четырех марок хитозана антибактериальной активностью обладают хитозан пищевой кислоторастворимый и хитозан Premium Quality. Обработка гидрофильного нетканого материала, полученного по технологии спанбонд, раствором хитозана приводит к уменьшению воздухопроницаемости на 19%, увеличению жесткости на 77%. Паропроницаемость при концентрации раствора хитозана до 0,2% растет, дальнейшее же увеличение концентрации приводит к снижению этого показателя. Гигроскопичность в изученном диапазоне дозировок не меняется. Данные, представленные в статье, свидетельствуют о нецелесообразности пропитки нетканых материалов медицинского назначения раствором хитозана с концентрацией более 0,2%, поскольку при более высоких концентрациях раствора потребительские характеристики (воздухопроницаемость и паропроницаемость) модифицированного нетканого материала ухудшаются.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Лисаневич М.С., Перушкина Е.В. Исследование возможности модификации нетканых материалов хлорексидином с целью придания антибактериальных свойств // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 633–639. DOI: 10.21285/2227-2925-2022-12-4-633-639. EDN: YJYTD.
2. Xin Z., Du S., Zhao C., Chen H., Sun M., Shunjie Y., et al. Antibacterial performance of polypropylene nonwoven fabric wound dressing surfaces containing passive and active components // Applied Surface Science. 2016. Vol. 365. P. 99–107. DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.12.217.
3. Markovic D., Milovanovic S., Radetic M., Jokic B., Zizovic I. Impregnation of corona modified polypropylene nonwoven material with thymol in supercritical carbon dioxide for antimicrobial application // The Journal of Supercritical Fluids. 2015. Vol. 101. P. 215–221. DOI: 10.1016/j.supflu.2015.03.022.
4. Degoutin S., Jimenez M., Casetta M., Bellayer S., Chai F., Blanchemain N., et al. Anticoagulant and antimicrobial finishing of non-woven polypropylene textiles // Biomedical Materials. 2012. Vol. 7, no. 3. P. 035001. DOI: 10.1088/1748-6041/7/3/035001.
5. La D.D., Pham K.T.T, Lai H.T., Tran D.L., Bui C.V., Nguyen P.H.T., et al. Fabrication of antibacterial Ag/graphene-integrated non-woven polypropylene textile for air pollutant filtering // Waste and Biomass Valorization. 2023. Vol. 14. P. 3275–3284. DOI: 10.1007/s12649-023-02101-y.
6. Galimzyanova R.Y., Lisanevich M.S., Khakimullin Y.N. Influence of electron radiation on the physical and mechanical properties of a nonwoven fabric made using Spunlace technology // Journal of Physics: Conference Series. 2021. Vol. 2124. P. 012015. DOI: 10.1088/1742-6596/2124/1/012015.
7. Lisanevich M.S., Galimzyanova R.Yu., Ivanov V.V. Analysis of the effect of ionizing radiation on the properties of bulk nonwoven material // Journal of Physics: Conference Series. 2021. Vol. 2124. P. 012024. DOI: 10.1088/1742-6596/2124/1/012024.
8. Abdou E.S., Elkholy S.S., Elsabee M.Z., Mohamed E. Improved antimicrobial activity of polypropylene and cotton nonwoven fabrics by surface treatment and modification with chitosan // Journal of Applied Polymer Science. 2008. Vol. 108, no. 4. P. 2290–2296. DOI: 10.1002/app.25937.
9. Лисаневич М.С., Галимзянова Р.Ю., Иванов В.В. Исследование влияния низкотемпературной плазмы на свойства нетканого материала Холлофайбер® // Известия высших учебных заведений. Технология текстильной промышленности. 2022. N 5. С. 140–145. DOI: 10.47367/0021-3497_2022_5_140. EDN: HUDDX.
10. Хакимуллин Ю.Н., Гильмутдинова Г.М., Бахридинова А.Р., Лисаневич М.С., Рахматулина Э., Галимзянова Р.Ю. Исследование влияния неравновесной низкотемпературной плазмы на свойства ламинированного нетканого материала // Известия высших учебных заведений. Технология текстильной промышленности. 2016. Т. 34. N 4. С. 68–71. EDN: YNLHQD.
11. Galimzyanova R.Y., Lisanevich M.S., Khakimullin Y.N. Influence of nonequilibrium low-temperature plasma on the properties of nonwoven fabric based on polypropylene // Key Engineering Materials. 2021. Vol. 899. P. 179–184. DOI: 10.4028/www.scientific.net/KEM.899.179.
12. Wang C.-C., Chen C.-C. Anti-bacterial and swelling properties of acrylic acid grafted and collagen/chitosan immobilized polypropylene non-woven fabrics // Journal of Applied Polymer Science. 2005. Vol. 98, no. 1. P. 391–400. DOI: 10.1002/app.22224.
13. Wang C.-C., Wu W.-Y., Chen C.-C. Antibacterial and swelling properties of *N*-isopropyl acrylamide grafted and collagen/chitosan-immobilized polypropylene nonwoven fabrics // Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials. 2011. Vol. 96B, no. 1. P. 16–24. DOI: 10.1002/jbm.b.31709.

14. Wang C.-C., Su C.-H., Chen C.-C. Water absorbing and antibacterial properties of *N*-isopropyl acrylamide grafted and collagen/chitosan immobilized polypropylene nonwoven fabric and its application on wound healing enhancement // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2008. Vol. 84A, no. 4. P. 1006–1017. DOI: 10.1002/jbm.a.31482.

15. Shahidi S., Yazdani M., Hezavehi E. Surface modification of polypropylene nonwoven fabrics by low temperature plasma followed by chitosan grafting // *BioChemistry: an Indian Journal*. 2014. Vol. 8, no. 4. P. 99–105.

16. Куликов С.Н., Тюрин Ю.А., Хайруллин Р.З. Антибактериальная активность хитозана в отношении энтеробактерий и стафилококков, выделенных у пациентов с дисбактериозом кишечника // *Казанский медицинский журнал*. 2010. Т. 91. N 5. С. 656–660. EDN: NQUNYX.

17. Герасименко Д.В., Авдиенко И.Д., Банникова Г.Е., Зуева О.Ю., Варламов В.П. Антибактериальная активность водорастворимых низкомолекулярных хитозанов в отношении различных микроорганизмов // *Прикладная*

биохимия и микробиология. 2004. Т. 40. N 3. С. 301–306. EDN: OYOYGH.

18. Liu X.F., Guan Y.L., Yang D.Z., Li Z., Yao K.D. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan // *Journal of Applied Polymer Science*. 2001. Vol. 79, no. 7. P. 1324–1335. DOI: 10.1002/1097-4628(20010214)79:7<1324::AID-APP210>3.0.CO;2-L.

19. Raafat D., von Bargen K., Haas A., Sahl H.-G. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound // *Applied and Environmental Microbiology*. 2008. Vol. 74, no. 12. DOI: 10.1128/AEM.00453-08.

20. Kulikov S., Tikhonov V., Blagodatskikh I., Bezrodnykh E., Lopatin S., Khairullin R., et al. Molecular weight and pH aspects of the efficacy of oligochitosan against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) // *Carbohydrate Polymers*. 2012. Vol. 87, no. 1. P. 545–550. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.08.017.

REFERENCES

1. Lisanevich M.S., Perushkina E.V. Modification of nonwoven fabrics with chlorhexidine to impart antibacterial properties. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):633-639. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2022-12-4-633-639. EDN: YJYTD.

2. Xin Z., Du S., Zhao C., Chen H., Sun M., Shunjie Y., et al. Antibacterial performance of polypropylene nonwoven fabric wound dressing surfaces containing passive and active components. *Applied Surface Science*. 2016;365:99-107. DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.12.217.

3. Markovic D., Milovanovic S., Radetic M., Jokic B., Zizovic I. Impregnation of corona modified polypropylene non-woven material with thymol in supercritical carbon dioxide for antimicrobial application. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2015;101:215-221. DOI: 10.1016/j.supflu.2015.03.022.

4. Degoutin S., Jimenez M., Casetta M., Bellayer S., Chai F., Blanchemain N., et al. Anticoagulant and antimicrobial finishing of non-woven polypropylene textiles. *Biomedical Materials*. 2012;7(3):035001. DOI: 10.1088/1748-6041/7/3/035001.

5. La D.D., Pham K.T.T., Lai H.T., Tran D.L., Bui C.V., Nguyen P.H.T., et al. Fabrication of antibacterial Ag/graphene-integrated non-woven polypropylene textile for air pollutant filtering. *Waste and Biomass Valorization*. 2023;14:3275-3284. DOI: 10.1007/s12649-023-02101-y.

6. Galimzyanova R.Y., Lisanevich M.S., Khakimullin Y.N. Influence of electron radiation on the physical and mechanical properties of a nonwoven fabric made using Spunlace technology. *Journal of Physics: Conference Series*. 2021;2124:012015. DOI: 10.1088/1742-6596/2124/1/012015.

7. Lisanevich M.S., Galimzyanova R.Yu., Ivanov V.V. Analysis of the effect of ionizing radiation on the properties of bulk nonwoven material. *Journal of Physics: Conference Series*. 2021;2124:012024. DOI: 10.1088/1742-6596/2124/1/012024.

8. Abdou E.S., Elkholy S.S., Elsabee M.Z., Mohamed E. Improved antimicrobial activity of polypropylene and cotton nonwoven fabrics by surface treatment and modification with chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*. 2008;108(4):2290-2296. DOI: 10.1002/app.25937.

9. Lisanevich M.S., Galimzyanova R.Yu., Ivanov V.V. Investigation of the effect of low-temperature plasma on the properties of non-woven material Holowfiber®. *Textile Industry Technology*. 2022;5:140-145. (In Russian). DOI: 10.47367/0021-3497_2022_5_140. EDN: HUDDX.

10. Khakimullin Y.N., Gilmutdinova G.M., Bakhridinova A.R., Lisanevich M.S., Rakhmatullina E.R., Galimzyanova R.Yu. Investigation of the effect of the nonequilibrium low-temperature plasma on the properties of the laminated non-woven fabric. *Textile Industry Technology*. 2016;34(4):68-71. (In Russian). EDN: YNLHQD.

11. Galimzyanova R.Y., Lisanevich M.S., Khakimullin Y.N. Influence of nonequilibrium low-temperature plasma on the properties of nonwoven fabric based on polypropylene. *Key Engineering Materials*. 2021;899:179-184. DOI: 10.4028/www.scientific.net/KEM.899.179.

12. Wang C.-C., Chen C.-C. Anti-bacterial and swelling properties of acrylic acid grafted and collagen/chitosan immobilized polypropylene non-woven fabrics. *Journal of Applied Polymer Science*. 2005;98(1):391-400. DOI: 10.1002/app.22224.

13. Wang C.-C., Wu W.-Y., Chen C.-C. Antibacterial and swelling properties of *N*-isopropyl acrylamide grafted and collagen/chitosan-immobilized polypropylene nonwoven fabrics. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2011;96B(1):16-24. DOI: 10.1002/jbm.b.31709.

14. Wang C.-C., Su C.-H., Chen C.-C. Water absorbing and antibacterial properties of *N*-isopropyl acrylamide grafted and collagen/chitosan immobilized polypropylene nonwoven fabric and its application on wound healing enhancement. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2008;84A(4):1006-1017. DOI: 10.1002/jbm.a.31482.

15. Shahidi S., Yazdani M., Hezavehi E. Surface modification of polypropylene nonwoven fabrics by low temperature plasma followed by chitosan grafting. *BioChemistry: an Indian Journal*. 2014;8(4):99-105.

16. Kulikov S.N., Tyurin Yu., Khairullin R.Z. Antibacterial activity of chitosan against enterobacteria and staphylococci isolated from patients with intestinal dysbacteriosis. *Kazan medical journal*. 2010;91(5):656-660. (In Russian). EDN: NQUNYX.

17. Gerasimenko D.V., Avdienko I.D., Bannikova G.E., Zueva O.Yu., Varlamov V.P. Antibacterial effects of water-soluble low-molecular-weight chitosans on different microorganisms. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2004;40(3):301-306. (In Russian). EDN: OYOYGH.

18. Liu X.F., Guan Y.L., Yang D.Z., Li Z., Yao K.D. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*. 2001;79(7):1324-1335. DOI: 10.1002/1097-4628(20010214)79:7<1324::AID-APP210>3.0.CO;2-L.

19. Raafat D., von Barga K., Haas A., Sahl H.-G. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. *Applied and Environmental Microbiology*. 2008;74(12). DOI: 10.1128/AEM.00453-08.

20. Kulikov S., Tikhonov V., Blagodatskikh I., Bezrodnykh E., Lopatin S., Khairullin R., et al. Molecular weight and pH aspects of the efficacy of oligochitosan against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Carbohydrate Polymers*. 2012;87(1):545-550. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.08.017.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Галимзянова Резеда Юсуповна,

к.т.н., доцент,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
✉ galimzyanovar@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-7059-1481>

Перушкина Елена Вячеславовна,

к.т.н., доцент,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
perushkina_elena@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Лисаневич Мария Сергеевна,

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>

Али Едрес,

инженер,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
edres2015ali@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0007-6319-2168>

Вклад авторов

Р.Ю. Галимзянова – разработка методологии,
курирование данных, предоставление ресурсов.
Е.В. Перушкина – проведение исследования,
написание черновика рукописи.
М.С. Лисаневич – проведение исследования,
написание черновика рукописи.
Е. Али – проведение исследования.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Rezeda Yu. Galimzyanova,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Kazan National Research
University of Technology,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
✉ galimzyanovar@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-7059-1481>

Elena V. Perushkina,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Kazan National Research
Technological University,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
perushkina_elena@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Maria S. Lisanevich,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Kazan National Research
Technological University,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
lisamevichms@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9715-9231>

Edres Ali,

Engineer,
Kazan National Research
University of Technology,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
edres2015ali@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0007-6319-2168>

Contribution of the authors

Rezeda Yu. Galimzyanova – methodology,
data curation, resources.
Elena V. Perushkina – investigation,
writing – original draft.
Maria S. Lisanevich – investigation,
writing – original draft.
Ali Edres – investigation.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 10.07.2024.
Одобрена после рецензирования 27.10.2024.
Принята к публикации 06.08.2025.

Conflict of interest

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 10.07.2024.
Approved after reviewing 27.10.2024.
Accepted for publication 06.08.2025.

Научная статья
УДК 579.61
EDN: BUWBKE
DOI: 10.21285/achb.996



Влияние состава среды на рост мицелия и биосинтез метаболитов *Daedaleopsis tricolor*

М.А. Сысоева, И.Ш. Прозорова✉, Е.В. Сысоева

Казанский национальный исследовательский технологический университет,
Казань, Российская Федерация

Аннотация. Метаболиты *Daedaleopsis tricolor* представляют практический интерес, поскольку они обладают антиоксидантными, антимикробными, противоопухолевыми свойствами. Погруженное культивирование *Daedaleopsis tricolor* KS11 было осуществлено на питательных средах, содержащих разные источники азота – дрожжевой экстракт, соевый изолят и их комбинацию в соотношении 1:1. Было показано, что культивирование *Daedaleopsis tricolor* KS11 на комбинированной среде позволяет получить до 9 г/л биомассы. При этом на 1 сутки сокращается продолжительность его выращивания по сравнению с использованием дрожжевого экстракта или соевого изолята в качестве единственных источников азота. При культивировании базидиомицета на комбинированной среде суммарные экзометаболиты проявляют высокие антиоксидантные (88,61 мг/г) и антирадикальные (3,41 мг/мл) свойства. Это коррелирует с высоким содержанием в них флавоноидов – 18,56 мг/г по сравнению с экзометаболитами, полученными при культивировании гриба на других средах. Показано, что для получения эндопигментов эффективнее использовать в качестве источника азота соевый изолят. На основании инфракрасного спектрометрического анализа эндопигменты отнесены к меланинам. Установлено, что перспективно культивировать *Daedaleopsis tricolor* KS11 на комбинированной среде, содержащей дрожжевой экстракт и соевый изолят в соотношении 1:1, поскольку на ней гриб накапливает экзо- и эндопигменты с высокими антиоксидантными свойствами. Полученные результаты можно использовать для создания биологически активных добавок антиоксидантного действия.

Ключевые слова: *Daedaleopsis tricolor*, погруженное культивирование, эндопигменты, флавоноиды, антиоксидантная активность

Благодарности. Авторы выражают благодарность кандидату биологических наук, доценту кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии Казанского федерального университета Т.И. Абдулину и младшему научному сотруднику научно-образовательного центра фармацевтики Казанского федерального университета М.И. Камалову за помощь в проведении инфракрасной спектроскопии.

Для цитирования: Сысоева М.А., Прозорова И.Ш., Сысоева Е.В. Влияние состава среды на рост мицелия и биосинтез метаболитов *Daedaleopsis tricolor* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 385–394. DOI: 10.21285/achb.996. EDN: BUWBKE.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Culture medium composition influences mycelial growth and metabolite biosynthesis of *Daedaleopsis tricolor*

Maria A. Sysoeva, Ilyuzha Sh. Prozorova✉, Elena V. Sysoeva

Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation

Abstract. The metabolites of the basidiomycete *Daedaleopsis tricolor* have attracted research attention due to their antioxidant, antimicrobial, and antitumor properties. This study investigated the submerged cultivation of the

Daedaleopsis tricolor strain KS11 in nutrient media supplemented with varying nitrogen sources, including yeast extract, soy protein isolate, and a 1:1 combination thereof. The cultivation on the combined medium yielded up to 9 g/L of biomass and reduced the cultivation time by one day compared to media containing a single nitrogen source. The total pool of exometabolites obtained using the combined medium demonstrated high antioxidant (88.61 mg/g) and antiradical activity (3.41 mg/mL). This activity correlated with a high flavonoid content of 18.56 mg/g, which exceeded the levels found in exometabolites from the other media. The use of soy protein isolate as a nitrogen source was more effective for the synthesis of endopigments. These endopigments were identified as melanins by infrared spectrometry. The cultivation of *Daedaleopsis tricolor* KS11 on a combined medium containing a 1:1 ratio of yeast extract and soy protein isolate represents a promising approach, as it facilitates the concurrent accumulation of exopigments and endopigments with high antioxidant properties. These findings provide a basis for developing dietary supplements with enhanced antioxidant activity.

Keywords: *Daedaleopsis tricolor*, submerged cultivation, endopigments, flavonoids, antioxidant activity

Acknowledgements. The authors would like to express their gratitude to Cand. Sci. Timur Abdullin (Department of Biochemistry, Biotechnology and Pharmacology, Kazan Federal University), as well as to Marat Kamalov (Scientific and Educational Center for Pharmacy, Kazan Federal University). Their assistance in conducting infrared spectroscopy is greatly appreciated.

For citation: Sysoeva M.A., Prozorova I.Sh., Sysoeva E.V. Culture medium composition influences mycelial growth and metabolite biosynthesis of *Daedaleopsis tricolor*. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):385-394. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.996. EDN: BUWBKE.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы наблюдается заметный интерес к культивируемым грибам, в том числе базидиомицетам, поскольку они продуцируют множество биологически активных соединений с разнообразными фармакологическими свойствами [1–3]. Дереворазрушающие грибы являются одними из самых богатых по содержанию и разнообразию вторичных метаболитов, включая фенольные соединения, терпеноиды, а также пигменты, известные своими антиоксидантными и антимикробными свойствами [2, 4–8]. Их мицелий и метаболиты используются в качестве биологически активных добавок.

Одним из перспективных базидиомицетов для разработки биотехнологии по получению метаболитов является *Daedaleopsis tricolor*. Наибольшая часть исследований его природных плодовых тел и мицелия направлена на выделение и идентификацию сесквитерпенов и эргостерола, которые обладают антиоксидантной, антибиотической и противоопухолевой активностью [9–12]. Кроме этого, сравнительный анализ этанольных экстрактов из культивируемых плодовых тел и мицелия показал, что содержание в них фенолов в 2,4 и 3,1 раза больше по сравнению с их количеством в экстракте, полученном из природных плодовых тел. Наибольшей антирадикальной активностью обладал экстракт из мицелия $IC_{50} = 7,93$ мг/мл [13].

При культивировании базидиомицетов погруженным способом можно изменять условия проведения процесса и состав питательных сред, что позволяет интенсифицировать их рост и биосинтез метаболитов. Так, при культивировании *D. tricolor* Db-14, Db-18 и Dr-17 на средах с разными источниками углерода и азота было установлено, что содержание полисахаридов, фенольных соединений, флавоноидов и каротиноидов в этанольных экстрактах мицелия заметно отличаются в зависимости от состава среды [14]. Интерес представляют не только плодовые тела и мицелий гриба, но и культуральные жидкости, которые содержат экзо- и эндометаболиты, обладающие значительными биологически активными свойствами. В литературе имеется мало

сведений по экзо- и эндометаболитам *D. tricolor*, что обуславливает перспективу дальнейших исследований экзо- и эндометаболитов *D. tricolor* KS11.

Целью проведенного исследования являлся подбор оптимальной среды, в которой источником азота может быть дрожжевой экстракт, соевый изолят или их комбинация, обеспечивающей накопление грибом *D. tricolor* KS11 метаболитов с высокими антиоксидантными свойствами для дальнейшего их использования в разработке биотехнологии получения биологически активных добавок.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объект исследования. В работе использовали культуру базидиального гриба *D. tricolor* KS11 из коллекции кафедры пищевой биотехнологии Казанского национального исследовательского технологического университета (г. Казань, Россия). Штамм выделен из природного плодового тела, депонирован в базе данных GenBank (номер OR804093) и содержится на глюкозо-картофельной среде в пробирке со скошенной агаром при температуре 4 ± 2 °C.

Погруженное культивирование гриба *Daedaleopsis tricolor* KS11. Для погруженного культивирования применяли питательные среды, состав которых приведен в табл. 1.

В колбы объемом 750 мл с предварительно стерилизованной питательной средой (100 мл) помещали 7-суточный инокулят гриба в количестве 10%. Выращивание проводили в шейкере-инкубаторе (Infors HT Escotron, Швейцария) при скорости вращения 200 об/мин и при температуре 27 °C в течение 5–7 суток. Затем выросшую биомассу отфильтровывали от культуральной жидкости, высушивали при 40 ± 2 °C конвективно-кондуктивным способом на электросушилке (Oberhof Fruchttrockner B-53, Китай). Количество биомассы определяли гравиметрически. Культуральную жидкость концентрировали на роторном испарителе (IKA RV 10 Digital, Германия) и высушивали при 40 ± 2 °C в электросушилке (Oberhof Fruchttrockner B-53, Китай).

Таблица 1. Состав питательных сред, использованных при культивировании *Daedaleopsis tricolor* KS11

Table 1. Composition of nutrient media used in the cultivation of *Daedaleopsis tricolor* KS11

Состав, г/л	Среда с дрожжевым экстрактом (среда 1)	Среда с соевым изолятом (среда 2)	Среда комбинированная (среда 3)
Глюкоза	20,0	20,0	20,0
Дрожжевой экстракт	5,0	-	2,5
Соевый изолят	-	5,0	2,5
Дигидроортофосфат калия	0,5	0,5	0,5
Магний серноокислый	0,5	0,5	0,5

Выделение эндопигментов. Пигменты из биомассы *D. tricolor* KS11 экстрагировали с помощью 2%-го раствора гидроксида натрия и выделяли осаждением 25%-й хлористоводородной кислотой [15].

Определение содержания флавоноидов. Готовили 70%-е этанольные растворы высушенной культуральной жидкости. К 200 мкл исследуемого объекта добавляли 100 мкл 2%-го раствора хлорида алюминия и выдерживали в течение 1 ч при комнатной температуре. После этого к смеси приливали 650 мкл 96%-го этанола и 50 мкл 4%-го раствора ацетата натрия. Измеряли оптическую плотность на микропланшетном ридере (TECAN Infinite 200 PRO, Австрия) при длине волны $\lambda = 380$ нм. В качестве контроля использовали аналогично приготовленную смесь, заменив образец на 96%-й этиловый спирт. Калибровочный график строили по дигидрокверцетину в концентрациях 10–200 мкг/мл. Содержание флавоноидов выражали в пересчете на эквивалент дигидрокверцетина, мг/г образца [14].

Определение антиоксидантной активности фосфомолибденовым методом. Готовили водные растворы эндопигментов и высушенной культуральной жидкости. Для лучшего растворения образцов пигментов в водный раствор добавляли 2–3 капли аммиака. 2 мл исследуемых растворов смешивали с 2 мл фосфомолибденового реактива и инкубировали на водяной бане при температуре 95 °С в течение 1 ч 30 мин. Оптическую плотность определяли при длине волны $\lambda = 695$ нм на микропланшетном ридере (TECAN Infinite 200 PRO, Австрия). Калибровочный график строили по растворам кверцетина, результаты выражали в пересчете на эквивалент дигидрокверцетина, мг/г образца [15–17].

Определение антиоксидантной активности фенантролиновым методом. Готовили водные растворы эндопигментов. Для лучшего растворения образцов пигментов в водный раствор добавляли 2–3 капли аммиака. К 0,5 мл раствора исследуемых объектов вносили 0,2 мл фенантролинового реактива и 4,3 мл дистиллированной воды. Перемешивали и выдерживали на водяной бане при температуре 50 °С в течение 30 мин. Измеряли оптическую плотность при длине волны $\lambda = 510$ нм на микропланшетном ридере (TECAN Infinite 200 PRO, Австрия). Активность рассчитывали по калибровочному графику, построенному по стандартным растворам кверцетина. Результаты выражали в пересчете на эквивалент дигидрокверцетина, мг/г образца [15, 18].

Определение антирадикальной активности. Спиртовые растворы высушенных культуральных жидкостей готовили в концентрациях от 2 до 16 мг/мл. Использовали метод, основанный на реакции антиоксидантов

с 0,2 мМ DPPH в 96%-м этаноле. Результаты выражали в IC_{50} , мг/мл [19].

Инфракрасная спектроскопия. Структуру эндопигментов подтверждали с помощью инфракрасной (ИК) спектроскопии с преобразованием Фурье в режиме неполного внутреннего отражения на спектрометре (Frontier Perkin Elmer, США) в диапазоне 500–4000 cm^{-1} (разрешение – 1 cm^{-1} , число сканов – 10).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Погруженное культивирование гриба *Daedaleopsis tricolor* KS11. Важным параметром, влияющим на рост мицелия и биосинтез многих метаболитов при культивировании грибов, является состав питательной среды и условия выращивания. Погруженное культивирование базидиомицета *D. tricolor* осуществляют на глюкозо-картофельной среде [9], а также на синтетических средах, в состав которых входят глюкоза, крахмал, кукурузный и дрожжевой экстракты, пептон [14]. Для того чтобы стимулировать рост мицелия, необходимо внести дополнительные питательные вещества, которые способны увеличить количество биомассы и синтез вторичных метаболитов, обладающих антиоксидантными, иммуномодулирующими и другими биологическими свойствами.

Часто в качестве таких добавок при выращивании грибов используют дрожжевой экстракт, продукты переработки сои и пептон [20–24]. Продукты переработки сои, например соевая мука и шрот сои, являются богатыми источниками белка. Дрожжевой экстракт является источником не только белка, пептидов, но и аминокислот, витаминов, минералов, которые необходимы грибу в качестве факторов роста. Пептоны представляют собой белоксодержащий продукт, количество белка в котором достигает 85%. Некоторые авторы используют для культивирования грибов *D. tricolor* среды, в состав которых входят как дрожжевой экстракт, так и пептон [14]. Выход биомассы на такой среде выше приблизительно в 2 раза по сравнению с использованием среды, в которой применена соевая мука. В данном исследовании предлагается вместо пептона в питательную среду добавлять соевый изолят, который в 16 раз дешевле, чем пептон, и в тоже время содержит больше (до 95%) белков, чем в соевой муке. Это позволяет снизить стоимость среды для культивирования продуцента.

Для культивирования *D. tricolor* KS11 были применены следующие среды: среда с дрожжевым экстрактом (среда 1), среда с соевым изолятом (среда 2) и комбинированная среда (среда 3), которая содержит дрожжевой экстракт и соевый изолят в соотношении 1:1. Рост биомассы показан на рис. 1.

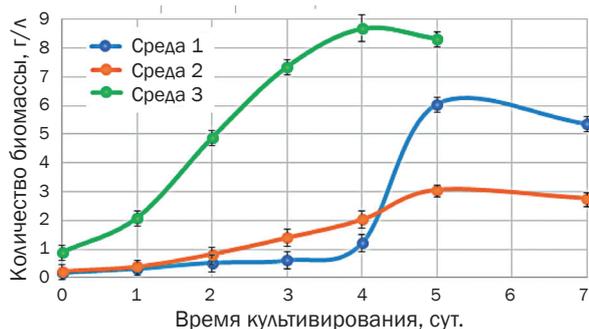


Рис. 1. Рост биомассы *Daedaleopsis tricolor* KS11 при культивировании на питательных средах с различным источником азота

Fig. 1. Growth of *Daedaleopsis tricolor* KS11 biomass during submerged cultivation on nutrient media with a different nitrogen sources

На среде 1 наблюдается максимальное накопление биомассы на 5-е сутки культивирования ($6,05 \pm 0,33$ г/л), скорость роста равна $1,61$ г/сут. Наибольшее количество биомассы на среде 2 ($3,07 \pm 0,33$ г/л) также отмечается на 5-е сутки выращивания, скорость роста при этом составила $0,41$ г/сут. Можно предположить, что ингибирование роста мицелия связано с избытком азота в питательной среде, поскольку соевого изолята было внесено 5 г/л и он содержит до 95% белка.

Среда 3 включает два источника азотсодержащего субстрата – дрожжевой экстракт и соевый изолят в соотношении $1:1$. Такой состав позволит снизить избыточное количество белка, при этом сохранить необходимые питательные компоненты для интенсивного роста гриба. При выращивании *D. tricolor* KS11 на среде 3 на 4-е сутки отмечается максимальное количество биомассы – $8,67 \pm 0,01$ г/л, скорость роста составляет $0,17$ г/сутки. Внесение в среду дрожжевого экстракта и соевого изолята позволило сократить процесс культивирования на 1 сутки и увеличить количество биомассы на 43% .

Проведенный анализ литературных данных показал, что штаммы Db-14, Db-18 и Dr-17 гриба *D. tricolor* при погруженном культивировании на среде, содержащей пептон и дрожжевой экстракт в концентрации 5 и 2 г/л соответственно, накапливают биомассу в количестве от $5,1$ до $7,4$ г/л в течение $5-7$ суток [14]. Следовательно,

базидиомицет *D. tricolor* KS11 является перспективным объектом биотехнологии, поскольку он за 4 суток наращивает до 9 г/л биомассы.

Для дальнейшей разработки продуктов с антиоксидантными свойствами в качестве объектов исследования были выбраны суммарные экзометаболиты культуральной жидкости и проанализировано содержание в них флавоноидов. Кроме того, одними из самых активных антиоксидантов грибов являются меланины, поэтому были выделены и исследованы антиоксидантные свойства этих эндометаболических веществ.

Экзометаболиты гриба *Daedaleopsis tricolor* KS11. Содержание флавоноидов и антиоксидантные свойства высушенной культуральной жидкости представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, высокие показатели содержания флавоноидов экзометаболитов наблюдаются уже к 5 -м суткам культивирования на всех питательных средах.

Согласно литературным данным, рекомендуется проводить как минимум два разных анализа для определения антиоксидантной активности [26], так как антиоксидант не может вступить в реакцию из-за того, что его окислительно-восстановительный потенциал выше, чем окислительно-восстановительный потенциал индикаторной системы, или из-за стерических препятствий. Учитывая, что экзометаболиты могут быть представлены различными группами веществ, проявляющих антиоксидантную активность, в работе для измерения этого показателя было применено два метода, оба из которых показали высокие значения антиоксидантной активности экзометаболитов гриба *D. tricolor* KS11 при выращивании на всех средах на 7 -е сутки культивирования.

Рост культуры на среде 2 (см. рис. 1) показывает, что гриб находится в состоянии стресса, поскольку накапливает мало биомассы и имеет низкую скорость роста. Анализ результатов табл. 2 демонстрирует, что в этих условиях *D. tricolor* KS11 продуцирует мало флавоноидных соединений, но при этом экзометаболиты на 7 -е сутки имеют высокие значения антиоксидантных свойств. Хороший рост *D. tricolor* KS11 показал на среде 1, которая лучше удовлетворяла его потребности. Это сказалось на увеличении концентрации флавоноидов, накопленных в среде, в $1,5-3,0$ раза. Можно предположить, что антиоксидантные свойства экзометаболитов обеспечивают именно эти соединения. Активный рост на среде 3 *D. tricolor* KS11 позволил

Таблица 2. Антиоксидантные свойства экзометаболитов *Daedaleopsis tricolor* KS11 и содержание в них флавоноидов

Table 2. Antioxidant properties of *Daedaleopsis tricolor* KS11 exometabolites and their flavonoid content

Питательная среда	Сутки	Содержание флавоноидов, мг/г	Антиоксидантная активность	
			Фосфомолибденовый метод, мг/г	DPPH, IC_{50} , мг/мл
Среда 1	1-е	$8,87 \pm 0,19$	$27,67 \pm 0,90$	$7,68$
	5-е	$12,54 \pm 1,45$	$48,09 \pm 3,27$	$7,65$
	7-е	$11,49 \pm 0,21$	$63,93 \pm 0,53$	$6,96$
Среда 2 [25]	1-е	$2,80 \pm 0,25$	$27,75 \pm 1,62$	$12,63$
	5-е	$3,84 \pm 0,44$	$49,30 \pm 4,34$	$4,56$
	7-е	$7,68 \pm 0,63$	$74,93 \pm 0,04$	$4,51$
Среда 3	1-е	$8,15 \pm 0,36$	$33,26 \pm 1,90$	$13,09$
	5-е	$18,56 \pm 0,33$	$88,61 \pm 0,04$	$3,41$

ему синтезировать в 1,5 раза больше флавоноидов, а также увеличить антиоксидантные и антирадикальные свойства суммарных экзометаболитов в 1,8 и 2,2 раза соответственно.

Учеными из Португалии было показано, что метанольные экстракты культуральной жидкости, полученные при выращивании гриба *Pleurotus eryngii* на глюкозо-картофельной среде и среде Melin – Norkans, обладают антирадикальной активностью ($EC_{50} = 22,0 \pm 0,5$ и $28,2 \pm 0,5$ мг/мл соответственно) [27]. Суммарные экзометаболиты *D. tricolor* KS11 превосходят по антирадикальным свойствам в 1,8–8,2 раза экзометаболиты *P. eryngii*, экстрагируемые метанолом.

Таким образом, удовлетворение потребностей гриба и хороший рост на среде 3 позволяет к 5-м суткам как получить максимальное количество флавоноидов, так и обеспечить высокие показатели общей антиоксидантной и антирадикальной активности суммарных экзометаболитов.

Эндометаболизмы гриба *Daedaleopsis tricolor* KS11. Известно, что базидиомицеты являются источником пигментов – меланинов и каротиноидов, которые способны проявлять высокие антиоксидантные свойства. Согласно данным авторов работ [14, 27], в экстрактах природных плодовых тел и мицелия *D. tricolor* были обнаружены каротиноиды. Другими авторами [28] был выделен меланин из плодовых тел этого гриба, произрастающего в природе. Приведенные сведения показывают перспективу изучения эндопигментов гриба *D. tricolor*.

В ходе проведения настоящего исследования были выделены пигменты из мицелия *D. tricolor* KS11 при его выращивании на средах с различными источниками

азота на 5-е сутки культивирования и определены их антиоксидантные свойства (табл. 3).

Вероятно, при выращивании на среде 2 гриб испытывает стресс, в связи с чем синтезирует большое количество эндопигментов. Из-за недостаточного количества доступных питательных веществ они имеют низкую антиоксидантную активность.

При выращивании *D. tricolor* KS11 на среде 3 количество синтезируемых им эндопигментов находится на приемлемом уровне, а так как в этом случае в питательной среде присутствует оптимальное соотношение доступных для гриба питательных веществ, синтезируемые пигменты имеют достаточно высокую антиоксидантную активность.

По сравнению с продуктивностью базидиомицета *Pycnoporellus fulgens* KS12, который накапливает эндопигменты в количестве от 12 до 32 мг/г биомассы, *D. tricolor* KS11 продуцирует их в 2 раза больше. Эндопигменты *D. tricolor* KS11 обладают близкими антиоксидантными свойствами с эндопигментами *P. fulgens* KS12 [15].

В настоящей работе показано, что по количеству пигментов в биомассе, а также их антиоксидантным свойствам *D. tricolor* KS11 не уступает другим видам грибов, что демонстрирует возможность дальнейшего создания на его основе биологически активных добавок антиоксидантного действия.

Эндопигмент, выделенный из биомассы *D. tricolor* KS11 при его культивировании на среде 2, проанализирован с применением ИК-спектрометрии (рис. 2).

ИК-спектр эндопигмента *D. tricolor* KS11 имеет все полосы поглощения, характерные для синтетического меланина и меланина сепии [29, 30], которые обычно используют в качестве стандартов для иден-

Таблица 3. Концентрация эндопигментов *Daedaleopsis tricolor* KS11 и их антиоксидантная активность при погруженном культивировании на средах с различными источниками азота на 5-е сутки

Table 3. Concentration of *Daedaleopsis tricolor* KS11 endopigments and their antioxidant activity in case of submerged cultivation on media with various nitrogen sources on the 5th day

Питательная среда	Концентрация эндопигментов, мг/г	Антиоксидантная активность, мг/г	
		Фосфомолибденовый метод	Фенантролиновый метод
Среда 1	29,00±3,00	69,81±1,34	19,15±2,79
Среда 2	126,00±3,50	45,65±4,03	7,47±1,04
Среда 3	63,00±4,00	52,14±2,31	11,78±0,95

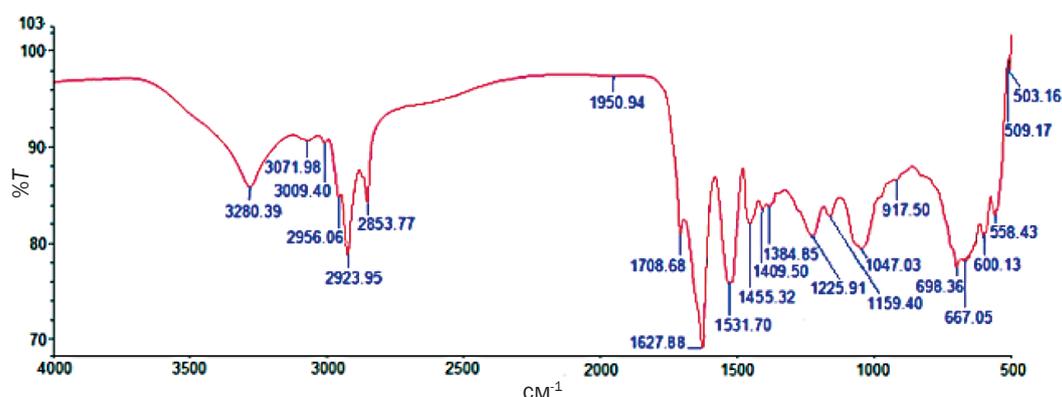


Рис. 2. Инфракрасный спектр эндопигмента, выделенного из биомассы *Daedaleopsis tricolor* KS11, полученной при культивировании гриба на среде 2

Fig. 2. Infrared spectrum of endopigment isolated from biomass obtained by *Daedaleopsis tricolor* KS11 cultivating on a nutrient medium 2

тификации этих пигментов. В спектре эндопигмента *D. tricolor* KS11 проведено отнесение полос поглощения, согласно источникам [29, 30]. Полосы поглощения в диапазоне 3600–2800 см⁻¹ связаны с валентными колебаниями (O-H и N-H) аминов, амидов или карбоновых кислот, фенольных и ароматических аминокислот, присутствующих в индольной и пирроловой системах. Характерная сильная полоса при ~1708 см⁻¹ обусловлена валентными колебаниями C = O, а полоса ~1627 см⁻¹ – колебаниями связей ароматического кольца C = C амида I или симметричным валентными колебаниями COO-групп. Наличие полос поглощения деформационных колебаний N-H при 1627 см⁻¹ (амид II-полоса) и валентных колебаний C-N при 1531 см⁻¹ (амид II-полоса) указывает на то, что пигмент имеет типичную индольную структуру меланина. Полосы в диапазоне ~1400–1500 см⁻¹ относятся к асимметричным деформационным колебаниям алифатических C–H-связей. Полоса при 1409 см⁻¹ (CH₂-CH₃-связи) является характерным признаком меланина. Фенольные C-OH плоскостные деформационные колебания, проявляющиеся при 1225 см⁻¹, могут свидетельствовать о присутствии в меланине фенольных соединений. Полоса с центром в 1047 см⁻¹ может указывать на присутствие гетероциклов с кислородным гетероатомом или характеризовать внеплоскостные деформационные колебания метильной группы γCH₃ (крутильные и веерные) с перекрытием плоскостными деформационными колебаниями δC-H-связи (ножничными и маятниковыми) CH в плоскости алифатической структуры, которые также являются характерными для пигмента меланина). Полосы ниже 700 см⁻¹ могут быть связаны с замещением алкена C-H в пигменте меланина.

Проведено сравнение спектра эндопигмента *D. tricolor* KS11 со спектрами меланинов, выделенных из других культивируемых грибов. Наиболее близкая картина спектра и наличие аналогичных полос поглощения в спектре эндопигмента *D. tricolor* KS11 наблюдаются со спектрами меланинов грибов: немодифицированного меланина *D. tricolor* [31], *Inonotus hispidus* [32], *Lachnum* YM404 [33] и ряда других. Отличительной особенностью спектров этих меланинов является высокая интенсивность полос поглощения при 2920 см⁻¹. Поскольку эта

и близкие к ней полосы соответствуют колебаниям алифатических C-H-групп, то считают, что в составе этих меланинов имеется высокое содержание алифатических соединений. Кроме того, полосы средней интенсивности при 2853 см⁻¹ на правом плече полосы колебаний алкильных C-H подтверждают присутствие альдегидных групп в меланине. Таким образом, по результатам анализа ИК-спектра эндопигмента *D. tricolor* KS11 он может быть отнесен к меланинам. Требуется провести расширенное исследование эндопигментов *D. tricolor* KS11 для того, чтобы отнести их к меланинам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено погруженное культивирование гриба *D. tricolor* KS11 на питательных средах, содержащих разные источники азота – дрожжевой экстракт, соевый изолят и их комбинацию в соотношении 1:1. Показано, что применение среды 3, в состав которой входят оба источника азота, приводит к максимальному накоплению грибом на 4-е сутки биомассы практически до 9 г/л, что в 1,4 раза больше, чем при культивировании его на среде 1. Это позволяет сократить продолжительность выращивания *D. tricolor* KS11 на 1-е сутки в сравнении с использованием других сред. При культивировании на среде 3 суммарные экзотометаболиты проявляют высокие антиоксидантные (88,61 мг/г) и антирадикальные (3,41 мг/мл) свойства. Скорее всего, это связано с наибольшим содержанием в них флавоноидов (18,56 мг/г) по сравнению с экзотометаболитами, полученными при культивировании гриба на других средах. Установлено, что при использовании соевого изолята в качестве источника азотсодержащего субстрата *D. tricolor* KS11 синтезирует эндопигментов в 2 и 4 раза больше, чем при его культивировании на среде 3 и среде 1 соответственно. С помощью ИК-спектроскопии проведено отнесение эндопигментов к меланинам на основании сравнения со спектрами меланинов грибов. Для дальнейшей разработки биотехнологии получения антиоксидантов на основе эндопигментов *D. tricolor* KS11 можно рекомендовать использование среды 3, поскольку именно на ней он накапливает экзо- и эндопигменты с высокими антиоксидантными свойствами.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Mišković J., Rašeta M., Čapelja E., Krsmanović N., Novaković A., Karaman M. Mushroom species *Stereum hirsutum* as natural source of phenolics and fatty acids as antioxidants and acetylcholinesterase inhibitors // Chemistry & Biodiversity. 2021. Vol. 18. N 11. P. e2100409. DOI: 10.1002/cbdv.202100409.
2. Karaman M., Čapelja E., Rašeta M., Rakić M. Diversity, chemistry, and environmental contamination of wild growing medicinal mushroom species as sources of biologically active substances (antioxidants, anti-diabetics, and ache inhibitors) // Biology, Cultivation and Applications of Mushrooms / eds A. Arya, K. Rusevska. Singapore: Springer, 2022. P. 203–257. DOI: 10.1007/978-981-16-6257-7_8.
3. Gariboldi M.B., Marras E., Ferrario N., Vivona V., Prini P., Vignati F., et al. Anti-cancer potential of edible/medicinal mushrooms in breast cancer // International Journal of Molecular Sciences. 2023. Vol. 24, no. 12. P. 10120. DOI: 10.3390/ijms241210120.
4. Bang T.H., Suhara H., Doi K., Ishikawa H., Fukami K., Parajuli G.P., et al. Wild mushrooms in Nepal: some potential candidates as antioxidant and ACE-inhibition sources // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2014. P. 95305. DOI: 10.1155/2014/195305.
5. Rašeta M., Mišković J., Čapelja E., Zapora E., Fabijan A.P., Knežević P., et al. Do *Ganoderma* species represent novel sources of phenolic based antimicrobial agents? // Molecules. 2023. Vol. 28, no. 7. P. 3264. DOI: 10.3390/molecules28073264.
6. Adhikari M., Bhusal S., Pandey M.R., Raut J.K., Bhatt L.R. Mycochemical and nutritional analysis of selected wild mushrooms from Gaurishankar conservation area, Nepal // International Journal of Pharmacognosy and Chinese Medicine. 2019. Vol. 3, no. 3. P. 000169. DOI: 10.23880/ipcm-16000169.
7. Kurchenko V.P., Sushinskaya N.V., Kiseleva I.S., Ermoshin A.A. Biologically active substances in fruit bodies of wood decomposing fungi // AIP Conference Proceedings. 2022. Vol. 2390, no. 1. P. 030045. DOI: 10.1063/5.0069253.

8. Ставский Е.А., Теплякова Т.В., Андреева И.С., Давыдова Е.С., Ставская А.А., Потешкина А.Л. Экспериментальная оценка лечебных свойств мази на основе меланинов из природного сырья и глубинной культуры чаги // *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022. Т. 6. N 1. С. 93–105. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-93-105. EDN: GNWRSX.
9. Kanehara R., Tonouchi A., Konno K., Hashimoto M. Cyclohumulanoid sesquiterpenes from the culture broth of the basidiomycetous fungus *Daedaleopsis tricolor* // *Molecules*. 2021. Vol. 26, no. 14. P. 4364. DOI: 10.3390/molecules26144364.
10. Zhao J.-Y., Feng T., Li Z.-H., Dong Z.-J., Zhang H.-B., Liu J.-K. Sesquiterpenoids and an ergosterol from cultures of the fungus *Daedaleopsis tricolor* // *Natural Products and Bioprospecting*. 2013. Vol. 3. P. 271–276. DOI: 10.1007/s13659-013-0065-0.
11. Kim E.-M., Jung H.-R., Min T.-J. Purification, structure determination and biological activities of 20(29)-lupen-3-one from *Daedaleopsis tricolor* (Bull. ex Fr.) Bond. et Sing // *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2001. Vol. 22, no. 1. P. 59–62.
12. Kanehara R., Tonouchi A., Konno K., Koshino H., Hashimoto M. Isolation of cyclohumulanoids from *Daedaleopsis tricolor* and their biosynthesis based on *in silico* simulations // *Tetrahedron*. 2022. Vol. 123. P. 133006. DOI: 10.1016/j.tet.2022.133006.
13. Čilerdžić J., Stajić M.M., Milovanović I.N., Galić M.M., Vukojević J.B. Antioxidative potential of *Daedaleopsis tricolor* basidiocarps and mycelium // *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*. 2017. Vol. 132. P. 19–27. DOI: 10.2298/ZMSPN1732019C.
14. Проценко М.А., Костина Н.Е., Теплякова Т.В. Подбор питательных сред для глубинного культивирования дереворазрушающего гриба *Daedaleopsis tricolor* (Bull.) Bondartsev et Singer // *Биотехнология*. 2018. Т. 34. N 1. С. 45–51. DOI: 10.21519/0234-2758-2018-34-1-45-51. EDN: YWQNGB.
15. Сысоева Е.В., Прозорова И.Ш., Сысоева М.А., Парикова Ю.С. Метаболиты, синтезируемые *Ruspororellus fulgens* KS12 при погруженном культивировании // *Бульерские сообщения*. 2024. Т. 80. N 12. С. 175–184. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/24-80-12-175. EDN: DWCTTP.
16. Хабибрахманова В.Р., Рассабина А.Е., Хайруллина А.Ф., Минибаева Ф.В. Физико-химические характеристики и антиоксидантные свойства меланинов, выделенных из лишайника *Leptogium furfuraceum* (Harm.) // *Химия растительного сырья*. 2022. N 4. С. 115–125. DOI: 10.14258/jcprm.20220411774. EDN: SOUXVT.
17. Saadaoui N., Mathlouthi A., Zaiter A., El-Bok S., Mokni M., Harbi M., et al. Phytochemical profiling, antioxidant potential and protective effect of leaves extract of tunisian *Vitis vinifera* autochthonous accessions against acute CCl₄-injured hepatotoxicity in mice // *Heliyon*. 2023. Vol. 9, no. 5. P. e16377. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e16377.
18. Klyushova L.S., Kandalintseva N.V., Grishanova A.Y. Antioxidant activity of new sulphur- and selenium-containing analogues of potassium phenosan against H₂O₂-induced cytotoxicity in tumour cells // *Current Issues in Molecular Biology*. 2022. Vol. 44, no. 7. P. 3131–3145. DOI: 10.3390/cimb44070216.
19. Kannan J., Pang K.-L., Ho Y.-N., Hsu P.-H., Chen L.-L. A comparison of the antioxidant potential and metabolite analysis of marine fungi associated with the red algae *Pterocladia capillacea* from Northern Taiwan // *Antioxidants*. 2024. Vol. 13, no. 3. P. 336. DOI: 10.3390/antiox13030336.
20. Ribera J., Panzarasa G., Stobbe A., Osypova A., Rupper P., Klose D., Schwarze F.W.M.R. Scalable Biosynthesis of Melanin by the Basidiomycete *Armillaria cepistipes* // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019. Vol. 67, no. 1. P. 132–139. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b05071.
21. Mišković J., Karaman M., Rašeta M., Krsmanović N., Berežni S., Jakovljević D., et al. Comparison of two *Schizophyllum commune* strains in production of acetylcholinesterase inhibitors and antioxidants from submerged cultivation // *Journal of Fungi*. 2021. Vol. 7, no. 2. P. 115. DOI: 10.3390/jof7020115.
22. Krupodorova T., Barshteyn V., Dzhagan V., Pluzhnyk A., Zaichenko T., Blume Ya. Enhancement of antioxidant activity and total phenolic content of *Fomitopsis pinicola* mycelium extract // *Fungal Biology and Biotechnology*. 2024. Vol. 11. P. 18. DOI: 10.1186/s40694-024-00187-0.
23. Krupodorova T., Barshteyn V., Gafforov Yu., Raseta M., Zaichenko T., Blume Ya. Comparative evaluation of free radical scavenging activity and total metabolite profiles among 30 macrofungi species // *Bioresources and Bioprocessing*. 2025. Vol. 12. P. 13. DOI: 10.1186/s40643-025-00841-4.
24. Chutimanukul P., Sukdee S., Prajuabjinda O., Thepsilvisut O., Panthong S., Athinuwat D., et al. The effects of soybean meal on growth, bioactive compounds, and antioxidant activity of *Hericium erinaceus* // *Horticulturae*. 2023. Vol. 9, no. 6. P. 693. DOI: 10.3390/horticulturae9060693.
25. Прозорова И.Ш., Сысоева М.А., Сысоева Е.В., Красильников Р.О. Антиоксидантная активность культуральной жидкости *Daedaleopsis tricolor* KS11, содержание в ней флавоноидов, простых фенолов // *BIOAsia-Altai 2024: материалы IV Междунар. биотехнологического форума (г. Барнаул, 23–28 сентября 2024 г.)*. Барнаул: Изд-во АлтГУ, 2024. С. 169–172.
26. Sadowska-Bartosz I., Bartosz G. Evaluation of the antioxidant capacity of food products: methods, applications and limitations // *Processes*. 2022. Vol. 10, no. 10. P. 2031. DOI: 10.3390/pr10102031.
27. Soulem F., Fernandes A., Calheta R.C., Barreira J.C.M., Barros L., Skhiri F., et al. Wild mushrooms and their mycelia as sources of bioactive compounds: antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties // *Food Chemistry*. 2017. Vol. 230. P. 40–48. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.03.02.
28. Le T.N., Tran N.T.H., Pham V.N.T., Van-Thi N.-D., Tran H.T.M. Anti-ultraviolet, antibacterial, and biofilm eradication activities against *Cutibacterium acnes* of melanin and melanin derivatives from *Daedaleopsis tricolor* and *Fomes fomentarius* // *Frontiers in Microbiology*. 2023. Vol. 14. P. 1305778. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1305778.
29. Pralea I.-E., Moldovan R.-C., Petrache A.-M., Ilie-M., Heghe S.-C., Ielciu I., et al. From extraction to advanced analytical methods: the challenges of melanin analysis // *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. Vol. 20, no. 16. P. 3943. DOI: 10.3390/ijms20163943.
30. Wang L.-F., Rhim J.-W. Isolation and characterization of melanin from black garlic and sepia ink // *LWT – Food Science and Technology*. 2019. Vol. 99. P. 17–23. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.09.033.

31. Nguyen H.A.T., Ho T.Ph., Mangelings D., Eeckhaut A.V., Heyden Y.V., Tran H.T.M. Antioxidant, neuroprotective, and neuroblastoma cells (SH-SY5Y) differentiation effects of melanins and arginine-modified melanins from *Daedaleopsis tricolor* and *Fomes fomentarius* // BMC Biotechnology. 2024. Vol. 24. P. 89. DOI: 10.1186/s12896-024-00918-6.

32. Hou R., Liu X., Xiang K., Chen L., Wu X., Lin W., et al. Characterization of the physicochemical properties and

extraction optimization of natural melanin from *Inonotus hispidus* mushroom // Food Chemistry. 2019. Vol. 277. P. 533–542. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.11.002.

33. Ye M., Guo G., Lu Yi., Song Sh., Wang H.-Y., Yang L. Purification, structure and anti-radiation activity of melanin from *Lachnum YM404* // International Journal of Biological Macromolecules. 2014. Vol. 63. P. 170–176. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2013.10.046.

REFERENCES

1. Mišković J., Rašeta M., Čapelja E., Krsmanović N., Novaković A., Karaman M. Mushroom species *Stereum hirsutum* as natural source of phenolics and fatty acids as antioxidants and acetylcholinesterase inhibitors. *Chemistry & Biodiversity*. 2021;18(11):e2100409. DOI: 10.1002/cbdv.202100409.

2. Karaman M., Čapelja E., Rašeta M., Rakić M. Diversity, chemistry, and environmental contamination of wild growing medicinal mushroom species as sources of biologically active substances (antioxidants, anti-diabetics, and ache inhibitors). In: Arya A., Rusevska K. (eds). *Biology, Cultivation and Applications of Mushrooms*. Singapore: Springer; 2022, p. 203-257. DOI: 10.1007/978-981-16-6257-7_8.

3. Gariboldi M.B., Marras E., Ferrario N., Vivona V., Prini P., Vignati F., et al. Anti-cancer potential of edible/medicinal mushrooms in breast cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(12):10120. DOI: 10.3390/ijms241210120.

4. Bang T.H., Suhara H., Doi K., Ishikawa H., Fukami K., Parajuli G.P., et al. Wild mushrooms in Nepal: some potential candidates as antioxidant and ACE-inhibition sources. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014;95305. DOI: 10.1155/2014/195305.

5. Rašeta M., Mišković J., Čapelja E., Zopora E., Fabijan A.P., Knežević P., et al. Do *Ganoderma* species represent novel sources of phenolic based antimicrobial agents? *Molecules*. 2023;28(7):3264. DOI: 10.3390/molecules28073264.

6. Adhikari M., Bhusal S., Pandey M.R., Raut J.K., Bhatt L.R. Mycochemical and nutritional analysis of selected wild mushrooms from Gaurishankar conservation area, Nepal. *International Journal of Pharmacognosy and Chinese Medicine*. 2019;3(3):000169. DOI: 10.23880/ijpcm-16000169.

7. Kurchenko V.P., Sushinskaya N.V., Kiseleva I.S., Ermoshin A.A. Biologically active substances in fruit bodies of wood decomposing fungi. *AIP Conference Proceedings*. 2022;2390(1):030045. DOI: 10.1063/5.0069253.

8. Stavsky E.A., Teplyakova T.V., Andreeva I.S., Davydova E.S., Stavskaya A.A., Poteskina A.L. Experimental evaluation of therapeutic properties of ointment based on melanins from natural raw material and a submerged culture of chaga (*Inonotus obliquus*). *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(1):93-105. (In Russian). DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-1-93-105. EDN: GNWRXS.

9. Kanehara R., Tonouchi A., Konno K., Hashimoto M. Cyclohumulanoid sesquiterpenes from the culture broth of the basidiomycetous fungus *Daedaleopsis tricolor*. *Molecules*. 2021;26(14):4364. DOI: 10.3390/molecules26144364.

10. Zhao J.-Y., Feng T., Li Z.-H., Dong Z.-J., Zhang H.-B., Liu J.-K. Sesquiterpenoids and an ergosterol from cultures

of the fungus *Daedaleopsis tricolor*. *Natural Products and Bioprospecting*. 2013;3:271-276. DOI: 10.1007/s13659-013-0065-0.

11. Kim E.-M., Jung H.-R., Min T.-J. Purification, structure determination and biological activities of 20(29)-lupen-3-one from *Daedaleopsis tricolor* (Bull. ex Fr.) Bond. et Sing. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2001;22(1):59-62.

12. Kanehara R., Tonouchi A., Konno K., Koshino H., Hashimoto M. Isolation of cyclohumulanoids from *Daedaleopsis tricolor* and their biosynthesis based on *in silico* simulations. *Tetrahedron*. 2022;123:133006. DOI: 10.1016/j.tet.2022.133006.

13. Čilerdžić J., Stajić M.M., Milovanović I.N., Galić M.M., Vukojević J.B. Antioxidative potential of *Daedaleopsis tricolor* basidiocarps and mycelium. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*. 2017;132:19-27. DOI: 10.2298/ZMSPN1732019C.

14. Protsenko M.A., Kostina N.E., Teplyakova T.V. Selection of nutrient media for submerged culturing of wood-destroying mushroom of *Daedaleopsis tricolor* (Bull.) Bondartsev et Singer. *Biotehnologija*. 2018;34(1):45-51. (In Russian). DOI: 10.21519/0234-2758-2018-34-1-45-51. EDN: YWQNGB.

15. Sysoeva E.V., Prozorova I.S., Sysoeva M.A., Parikova Y.S. Metabolites produced by the *Pycnoporellus fulgens* KS12 during submerged cultivation. *Butlerov Communications*. 2024;80(12):175-184. (In Russian). DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/24-80-12-175. EDN: DWCTTP.

16. Khabibrakhmanova V.R., Rassabina A.E., Khayrullina A.F., Minibayeva F.V. Physico-chemical characteristics and antioxidant properties of melanins extracted from *Leptogium furfuraceum* (Harm.). *Chemistry of plant raw material*. 2022;4:115-125. (In Russian). DOI: 10.14258/jcprm.20220411774. EDN: SOUXVT.

17. Saadaoui N., Mathlouthi A., Zaiter A., El-Bok S., Mokni M., Harbi M., et al. Phytochemical profiling, antioxidant potential and protective effect of leaves extract of tunisian *Vitis vinifera* autochthonous accessions against acute CCl₄-injured hepatotoxicity in mice. *Heliyon*. 2023;9(5):e16377. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e16377.

18. Klyushova L.S., Kandalintseva N.V., Grishanova A.Y. Antioxidant activity of new sulphur- and selenium-containing analogues of potassium phenosan against H₂O₂-induced cytotoxicity in tumour cells. *Current Issues in Molecular Biology*. 2022;44(7):3131-3145. DOI: 10.3390/cimb44070216.

19. Kannan J., Pang K.-L., Ho Y.-N., Hsu P.-H., Chen L.-L. A comparison of the antioxidant potential and metabolite analysis of marine fungi associated with the red algae *Pterocladia capillacea* from Northern Taiwan. *Antioxidants*. 2024;13(3):336. DOI: 10.3390/antiox13030336.

20. Ribera J., Panzarasa G., Stobbe A., Osypova A., Rupper P., Klose D., Schwarze F.W.M.R. Scalable Bio-

synthesis of Melanin by the Basidiomycete *Armillaria cepistipes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019;67(1):132-139. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b05071.

21. Mišković J., Karaman M., Rašeta M., Krsmanović N., Berežni S., Jakovljević D., et al. Comparison of two *Schizophyllum commune* strains in production of acetylcholinesterase inhibitors and antioxidants from submerged cultivation. *Journal of Fungi*. 2021;7(2):115. DOI: 10.3390/jof7020115.

22. Krupodorova T., Barshteyn V., Dzhagan V., Pluzhnyk A., Zaichenko T., Blume Ya. Enhancement of antioxidant activity and total phenolic content of *Fomitopsis pinicola* mycelium extract. *Fungal Biology and Biotechnology*. 2024;11:18. DOI: 10.1186/s40694-024-00187-0.

23. Krupodorova T., Barshteyn V., Gafforov Yu., Raseta M., Zaichenko T., Blume Ya. Comparative evaluation of free radical scavenging activity and total metabolite profiles among 30 macrofungi species. *Bioresources and Bioprocessing*. 2025;12:13. DOI: 10.1186/s40643-025-00841-4.

24. Chutimanukul P., Sukdee S., Prajuabjinda O., Thepsilvisut O., Panthong S., Athinuwat D., et al. The effects of soybean meal on growth, bioactive compounds, and antioxidant activity of *Hericium erinaceus*. *Horticulturae*. 2023;9(6):693. DOI: 10.3390/horticulturae9060693.

25. Prozorova I.Sh., Sysoeva M.A., Sysoeva E.V., Krasilnikov R.O. Antioxidant activity of *Daedaleopsis tricolor* KS11 culture liquid, its content of flavonoids, simple phenols. In: *BIOAsia-Altai 2024: materialy IV Mezhdunar. biotekhnologicheskogo foruma = BIOAsia-Altai 2024: Proc. IV Int. Biotech. Forum*. 23–28 September 2024, Barnaul. Barnaul: Altai State University; 2024, p. 169-172. (In Russian).

26. Sadowska-Bartosz I., Bartosz G. Evaluation of the antioxidant capacity of food products: methods, applications and limitations. *Processes*. 2022;10(10):2031. DOI: 10.3390/pr10102031.

27. Souilem F., Fernandes A., Calheta R.C., Barreira J.C.M., Barros L., Skhiri F., et al. Wild mushrooms and their mycelia as sources of bioactive compounds: antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties. *Food Chemistry*. 2017;230:40-48. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.03.02.

28. Le T.N., Tran N.T.H., Pham V.N.T., Van-Thi N.-D., Tran H.T.M. Anti-ultraviolet, antibacterial, and biofilm eradication activities against *Cutibacterium acnes* of melanins and melanin derivatives from *Daedaleopsis tricolor* and *Fomes fomentarius*. *Frontiers in Microbiology*. 2023;14:1305778. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1305778.

29. Prælea I.-E., Moldovan R.-C., Petrache A.-M., Ilie M., Heghe S.-C., Ielciu I., et al. From extraction to advanced analytical methods: the challenges of melanin analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(16):3943. DOI: 10.3390/ijms20163943.

30. Wang L.-F., Rhim J.-W. Isolation and characterization of melanin from black garlic and sepia ink. *LWT – Food Science and Technology*. 2019;99:17-23. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.09.033.

31. Nguyen H.A.T., Ho T.Ph., Mangelings D., Eeckhaut A.V., Heyden Y.V., Tran H.T.M. Antioxidant, neuroprotective, and neuroblastoma cells (SH-SY5Y) differentiation effects of melanins and arginine-modified melanins from *Daedaleopsis tricolor* and *Fomes fomentarius*. *BMC Biotechnology*. 2024;24:89. DOI: 10.1186/s12896-024-00918-6.

32. Hou R., Liu X., Xiang K., Chen L., Wu X., Lin W., et al. Characterization of the physicochemical properties and extraction optimization of natural melanin from *Inonotus hispidus* mushroom. *Food Chemistry*. 2019;277:533-542. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.11.002.

33. Ye M., Guo G., Lu Yi., Song Sh., Wang H.-Y., Yang L. Purification, structure and anti-radiation activity of melanin from *Lachnum* YM404. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014;63:170-176. DOI: 10.1016/wj.ijbiomac.2013.10.046.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Сысоева Мария Александровна,

д.х.н., профессор, профессор,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
oxygen1130@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4228-9124>

Прозорова Илюза Шамилевна,

ассистент,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
✉ kuleeva.1996@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6661-6217>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Maria A. Sysoeva,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Professor,
Kazan National Research Technological University,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
oxygen1130@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4228-9124>

Ilyuza Sh. Prozorova,

Assistant,
Kazan National Research Technological University,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
✉ kuleeva.1996@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6661-6217>

Сысоева Елена Владиславовна,
к.х.н., доцент,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68,
Российская Федерация,
inonotus@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0592-3667>

Elena V. Sysoeva,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Kazan National Research Technological University,
68, Karl Marx St., Kazan, 420015,
Russian Federation,
inonotus@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0592-3667>

Вклад авторов

М.А. Сысоева – разработка концепции, разработка методологии, курирование данных, формальный анализ, получение финансирования, проведение исследования, административное руководство исследовательским проектом, предоставление ресурсов, научное руководство, валидация результатов, редактирование рукописи.
И.Ш. Прозорова – разработка методологии, курирование данных, формальный анализ, проведение исследования, валидация результатов, написание черновика рукописи.
Е.В. Сысоева – разработка концепции, разработка методологии, курирование данных, формальный анализ, научное руководство, валидация результатов, редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 20.03.2025.
Одобрена после рецензирования 16.06.2025.
Принята к публикации 19.09.2025.

Contribution of the authors

Maria A. Sysoeva – conceptualization, methodology, data curation, formal analysis, funding acquisition, investigation, project administration, resources, supervision, validation, editing.
Ilyuza Sh. Prozorova – methodology, data curation, formal analysis, investigation, validation, writing – original draft.
Elena V. Sysoeva – conceptualization, methodology, data curation, formal analysis, supervision, validation, editing.

Conflict of interest

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 20.03.2025.
Approved after reviewing 16.06.2025.
Accepted for publication 19.09.2025.

Научная статья
УДК 544.723:663.961
EDN: HUTKRY
DOI: 10.21285/achb.993



Контроль сорбционного процесса декофеинизации напитка мате

В.И. Дейнека*, Е.Ю. Олейниц*✉, М.С. Фарафонова*,
Л.А. Дейнека*, А.Н. Чулков**

*Белгородский государственный национальный исследовательский университет,
Белгород, Российская Федерация

**Белгородский филиал Центра оценки качества зерна и продуктов его переработки,
Белгород, Российская Федерация

Аннотация. Цель проведенной работы заключалась в изучении способа декофеинизации напитка чая мате (настоя листьев *Ilex paraguariensis*) – одного из наиболее популярных напитков в Южной Америке, доступного на рынке России. Для определения качественного и количественного состава основных компонентов настоя использовали обращенно-фазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию на фазе *Kromasil 100-5C4*. Замена традиционно используемой для этого фазы *C18* была связана с необходимостью исключить модифицирование привитой фазы β -циклодекстрином при работе с настоями, в которых хлорогеновые кислоты образуют комплексы типа «гость – хозяин» с β -циклодекстрином для снижения степени сорбции кофеина на бентонитовой глине. Направленный подбор основных модификаторов подвижной фазы позволяет управлять положением кофеина среди монокофеоилхинных кислот, а градиентный режим элюирования дает возможность детектировать кофеин, монокофеоилхинные и дикофеоилхинные кислоты одновременно. При использовании бентонитовой глины в Na^+ -форме удается удалить более 95% кофеина, но с потерей как монокофеоилхинных (порядка 25%), так и дикофеоилхинных (порядка 50%) кислот. Учитывая, что по литературным данным именно дикофеоилхинные кислоты образуют более устойчивые комплексы включения с β -циклодекстрином по сравнению с монокофеоилхинными кислотами, в напиток было предложено добавлять β -циклодекстрин. Отметим, что и подготовленные бентонитовые глины (как эффективные интересорбенты) и β -циклодекстрин разрешены в использовании в пищевой и фармацевтической промышленности. В результате было установлено, что потери моно- и дикофеоилхинных кислот удается снизить более чем в 2 раза.

Ключевые слова: напиток мате, декофеинизация, сорбция на бентонитовой глине, комплексы включения в β -циклодекстрин, обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография, *C4*-фаза

Для цитирования: Дейнека В.И., Олейниц Е.Ю., Фарафонова М.С., Дейнека Л.А., Чулков А.Н. Контроль сорбционного процесса декофеинизации напитка мате // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 395–402. DOI: 10.21285/achb.993. EDN: HUTKRY.

Sorption process for the decaffeination of mate beverage

Victor I. Deineka*, Elena Yu. Oleinits*✉, Maria S. Farafonova*,
Lyudmila A. Deineka*, Andrey N. Chulkov**

*Belgorod State National Research University, Belgorod, Russian Federation

**Belgorod branch of the Center for Grain and Processed Products Quality Assessment, Belgorod, Russian Federation

Abstract. This study examines a method for decaffeinating mate tea, an infusion made from *Ilex paraguariensis* leaves. A popular beverage in South America, mate is now available on the Russian market. Reversed-phase high-performance liquid chromatography on a Kromasil 100-5C4 phase was used to analyze the major components of the infusion. The conventional C18 phase was replaced to prevent modification by β -cyclodextrin, as chlorogenic acids in the infusion form host-guest complexes with it, thereby reducing caffeine adsorption on bentonite clay. The targeted adjustment of key mobile phase modifiers controlled the elution position of caffeine relative to monocaffeoylquinic acids. A gradient elution mode enabled the simultaneous detection of caffeine, mono-, and dicaffeoylquinic acids. The use of Na^+ -form bentonite clay removed over 95% of the caffeine. However, this process incurred substantial losses of approximately 25% of monocaffeoylquinic and 50% of dicaffeoylquinic acids. Since dicaffeoylquinic acids form more stable inclusion complexes with β -cyclodextrin than their monocaffeoyl counterparts, the addition of β -cyclodextrin to the beverage was proposed. Both bentonite clay (an effective enterosorbent) and β -cyclodextrin are approved for food and pharmaceutical use. This approach reduced the losses of both mono- and dicaffeoylquinic acids by more than half.

Keywords: mate beverage, decaffeination, sorption on bentonite clay, inclusion complexes with β -cyclodextrin, reversed-phase high-performance liquid chromatography, C4 phase

For citation: Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Farafonova M.S., Deineka L.A., Chulkov A.N. Sorption process for the decaffeination of mate beverage. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):395-402. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.993. EDN: HUTKRY.

ВВЕДЕНИЕ

Ilex paraguariensis St. Hil. (*Aquifoliaceae*) – это растение Южной Америки, высушенные, обжаренные и измельченные листья которого издавна использовались для приготовления чая мате [1]. В течение последних лет во многих странах популярность данного напитка выросла благодаря его антиоксидантным свойствам, действию, направленному против ожирения, а также антиревматоидному фармакологическому эффекту. Высокая биологическая активность напитка мате связана главным образом с высоким содержанием в них хлорогеновых кислот (монокофеоилхинных и дикофеоилхинных), обеспечивающих антигликирующий эффект [2].

Кроме хлорогеновых кислот напиток содержит также кофеин и теобромин [1]. Кофеин – алкалоид психостимулирующего и аналептического действия. Он повышает скорость метаболизма, снижает усталость, уменьшает риск развития сахарного диабета второго типа, ожирения и некоторых онкологических заболеваний [3], также известны работы по изучению кофеина как вещества для профилактики болезней Альцгеймера и Паркинсона [4]. Тем не менее чрезмерное суточное употребление кофеина (более 450 мг в день) способствует нарушениям неврологического типа, развитию

остеопороза, увеличению риска сердечно-сосудистых заболеваний [5]. Кроме того, кофеин является предшественником мочевой кислоты, поэтому употребление продуктов, содержащих кофеин, следует ограничить для людей с различными формами артрита, особенно с подагрой. Хотя известные исследования о том, что употребление большого количества кофе не приводит к росту концентрации в крови мочевой кислоты [6], возможно, и корректны, но только в том, что кофе и чай не являются причиной заболевания. В связи с этим альтернативой для потребителя с артритом могут стать декофеинизированные напитки. На сегодняшний день на рынке Российской Федерации доступны декофеинизированные кофе и (китайский) чай.

При множестве различных технологий удаления кофеина из кофе или чая [7] к числу наиболее простых и безвредных можно отнести удаление кофеина из напитка благодаря сорбции кофеина на монтмориллонитовой глине [8].

Для декофеинизации растительного материала (измельченных листьев и стеблей мате до частиц размером не более 0,428 мм) успешно применяли сверхкритическую экстракцию диоксидом углерода без потери антиоксидантных свойств [9]. По европейскому патенту мате экстрагируют горячей водой, кофеин экстрагируют

хлорированными растворителями, а остаток упаривают досуха, избавляясь от следов растворителя [10]. При этом в Бразилии коммерчески доступны декофеинизированные образцы по крайней мере одиннадцати генотипов мате [11]. Обзор сорбционных методов удаления кофеина (включая использование монтмориллонитовых глин) представлен в работе [12], в которой указывается, что наиболее эффективным методом удаления этого вещества является использование активированного угля. К сожалению, этот сорбент, как и другие, эффективен и при сорбции хлорогеновых кислот [13], поэтому не применим для декофеинизации напитка мате. Идея использования циклодекстрина, по нашим данным, при решении проблемы работы не рассматривалась.

В связи с вышесказанным целью настоящей работы являлось определение условий для декофеинизации чая мате с использованием бентонитовой глины и супрамолекулярной технологии для снижения сорбции хлорогеновых кислот.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растительный материал был приобретен на местном рынке или получен через Интернет. Напитки готовили настаиванием размолотого в кофемолке растительного материала с заданным количеством кипящей воды; смесь выдерживали в течение 10 мин и фильтровали через бумажный фильтр.

Разделение и количественное определение компонентов настоев проводили на хроматографе Agilent 1260 с диодно-матричным детектором (Agilent, США) для определения хлорогеновых кислот хроматограмму записывали при 325 нм, а для определения кофеина – при 283 нм. Использовали хроматографическую колонку 150×4,6 мм Kromasil 100-5C4 (Kromasil, Швеция), температура термостата колонок составляла 30 °С. Для создания градиентного режима использовали следующие растворы: раствор А – 4% об. пропанола-2 и 1% об. этилацетата в воде с добавкой 0,4% об. ортофосфорной кислоты; раствор Б – 16% об. пропанола-2 и 2% об. этилацетата в воде с добавкой 0,4% об. ортофосфорной кислоты. Программа градиента: 0 мин – 0% Б; 22 мин – 100% Б; 23 мин – 0% Б; 30 мин – 0% Б. Скорость подачи подвижной фазы – 0,8 мл/мин.

Для градуировки отклика детектора использовали 5-кофеоилхинной кислоты полугидрат (Sigma-Aldrich, США) и кофеин (Aldrich, Германия). Хранение, обработку хроматограмм осуществляли в программном макете Agilent ChemStation.

В работе использовали бентонитовую глину марки Бентакон (Россия), содержащую по паспорту более 80% монтмориллонита. Перед использованием глину отмывали от карбоната натрия водой. Сорбцию осуществляли добавлением к отфильтрованному настою заданной навески глины, а для уменьшения сорбции хлорогеновых кислот добавляли заданное количество β-циклодекстрина (Chemical Line). Смесь выдерживали в течение необходимого времени на механическом встряхивателе, твердый остаток отделяли центрифугированием.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для определения как хлорогеновых кислот [14], так и метилксантинов (включая кофеин) [15] подходит обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная

хроматография на традиционных C18 фазах. Основная проблема при одновременном определении кофеина и хлорогеновых кислот может быть решена правильным подбором состава подвижной фазы [16]. В то же время в настоящей работе для определения состава основных компонентов напитка использовали обращенно-фазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию с использованием колонки C4. Такая колонка была выбрана в связи с тем, что в работе предполагалось использование β-циклодекстрина. Дело в том, что модифицирование поверхности сорбента циклодекстрином минимально и обратимо именно в случае фазы C4 [17]. При разделении использовали градиентный режим, поскольку в исследуемом напитке относительно высоко содержание дикофеоилхинных кислот, имеющих существенно более высокую липофильность по сравнению с монокофеоилхинными кислотами, а в качестве элюентов использовали смеси пропанола-2 и этилацетата с водой, подкисленной ортофосфорной кислотой. Такие смеси позволяют целенаправленно изменить удерживание кофеина относительно монокофеоилхинных кислот и кофеина [16]; соэлюирование 4CQA и 5CQA для целей работы не принципиально (рис. 1).

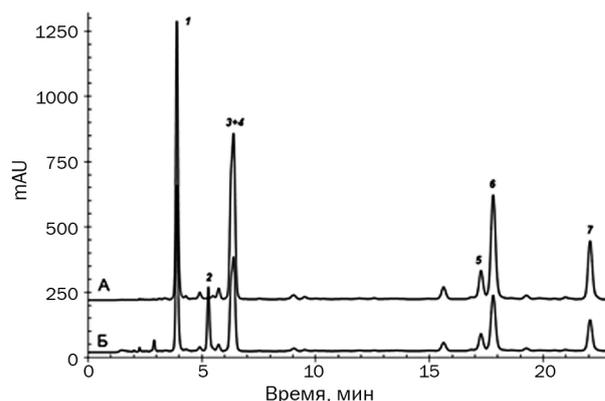


Рис. 1. Разделение компонентов водного экстракта *Ilex paraguariensis* (колонка 150×4,6 мм Kromasil 100-5C4; подвижная фаза: 3% об. изопропанола, 2% об. этилацетата и 0,2% об. ортофосфорной кислоты в воде, 0,8 мл/мин; детектирование А – при 325 нм, Б – при 283 нм; вещества: 1 – 3CQA, 2 – кофеин, 3 – 4CQA, 4 – 5CQA, 5 – 3,4-diCQA, 6 – 3,5-diCQA, 7 – 4,5-diCQA)

Fig. 1. Distribution of components of *Ilex paraguariensis* aqueous extract (column 150×4.6 mm Kromasil 100-5C4; movable phase 3 vol.% isopropanol, 2 vol.% ethyl acetate and 0.2 vol.% orthophosphoric acid in water, 0.8 ml/min; detection A – at 325 nm, B – at 283 nm; substances: 1 – 3CQA, 2 – caffeine, 3 – 4CQA, 4 – 5CQA, 5 – 3,4-diCQA, 6 – 3,5-diCQA, 7 – 4,5-diCQA)

Напиток мате интересен тем, что в его состав входят те же основные компоненты, что и в напиток кофе (табл. 1):
– три изомерные монокофеоилхинные кислоты (МКХК): 3-кофеоилхинная, 4-кофеоилхинная и 5-кофеоилхинная кислоты (3CQA, 4CQA и 5CQA, соответственно) – в 100 мл настоя найдено в сумме от 40 до 100 мг этих соединений;

– три изомерные дикофеоилхинные кислоты (ДКХК): 3,4-дикофеоилхинная, 3,5-дикофеоилхинная и

Таблица 1. Содержание хлорогеновых кислот и кофеина в напитках мате различных марок

Table 1. Chlorogenic acids and caffeine content in mate drinks of various brands

Вещество	Марка материала или производитель				
	Мате зеленый	Pipore (Уругвай)	Спирит (Гринфилд)	Агуанте (Гринфилд)	Pojarito (Парагвай)
	Концентрация веществ в напитке, мг/мл ($\pm 5\%$)				
ЗСQA	0,230	0,170	0,082	0,119	0,210
4CQA+5CQA	0,270	0,200	0,116	0,150	0,285
Сумма монокофеоилхинных кислот	0,500	0,370	0,198	0,269	0,495
3,4diCQA	0,038	0,030	0,013	0,021	0,039
3,5diCQA	0,123	0,105	0,049	0,067	0,107
4,5diCQA	0,064	0,055	0,029	0,035	0,072
Сумма дикофеоилхинных кислот	0,225	0,190	0,092	0,123	0,218
Кофеин	0,087	0,080	0,026	0,054	0,080

Таблица 2. Содержание хлорогеновых кислот и кофеина в исходном напитке и их изменение после добавления бентонитовой глины и β -циклодекстрина

Table 2. Chlorogenic acids and caffeine content in the initial drink and their change after the addition of bentonite clay and β -cyclodextrin

Показатель	Значение			
$m(\text{глины})^*$, г	0	1	1	1
$m(\beta\text{CD})^*$, г	0	0	0,5	1,0
Вещество	C_0 , мг/мл, $\pm 2,0\%$	Доля остатка после сорбции на глине, %		
ЗСQA	0,412	80,6–83,9	85,8–87,4	70,32–89,80
4CQA+5CQA	0,531	71,4–72,0	82,4–83,1	85,40–86,10
Сумма МКХ кислот	0,942	75,5–77,2	83,8–85,0	83,70–87,70
3,4diCQA	0,058	49,9–52,8	67,4–68,9	70,30–73,00
3,5diCQA	0,221	55,5–57,6	82,2–85,8	85,40–87,70
4,5diCQA	0,108	33,7–39,1	76,5–80,7	80,20–81,50
Сумма ДКХ кислот	0,388	48,6–51,7	78,3–81,8	81,60–83,70
Кофеин	0,177	1,7–1,8	1,5–1,9	1,60–1,80

Примечание. * – на 10 мл напитка; C_0 – исходная концентрация веществ в напитке.

4,5-дикофеоилхинная кислоты (3,4diCQA, 3,5diCQA и 4,5diCQA, соответственно) – в 100 мл настоя найдено в сумме от 25 до 60 мг этих соединений;

– кофеин – от 5 до 16 мг в 100 мл настоя.

Полученные в настоящей работе результаты качественно и количественно согласуются с результатами работы [18]. Они не противоречат также результатам работы [19], в которой почему-то определяли только МКХК, хотя известно, что биодоступность ДКХК выше, чем МКХК [20].

Результаты извлечения (сорбции) компонентов настоя при добавлении различных навесок глины к 100 мл настоя (чая мате) при исходных концентрациях МКХК 0,311 мг/мл, ДКХК 0,250 мг/мл и 0,071 мг/мл кофеина представлены на рис. 2.

Из представленных данных следует, что сорбция кофеина происходит существенно более интенсивно по сравнению с МКХК, но степень удаления ДКХК также велика. Так, для удаления 95% кофеина требуется 10 г глины на 100 мл чая мате, что может считаться приемлемым вследствие невысокой стоимости глины. Но потери примерно половины наиболее биодоступных ДКХК делают метод сорбционного удаления кофеина не очень обоснованным.

Тем не менее существует способ снижения потерь хлорогеновых кислот за счет их комплексообразования

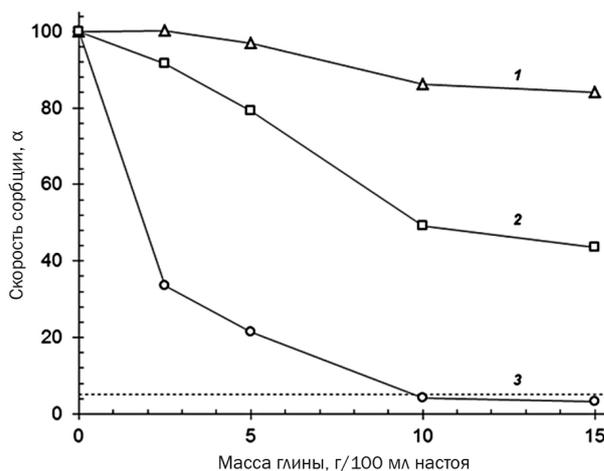


Рис. 2. Степень извлечение хлорогеновых кислот и кофеина как функция массы навески глины на 100 мл настоя (вещества: 1 – сумма монокофеоилхинных кислот, 2 – сумма дикофеоилхинных кислот, 3 – кофеина)

Fig. 2. Sorption degree of chlorogenic acids and caffeine as a function of the weight of the clay sample per 100 ml of infusion (substances: 1 – the sum of monocateoylquinic acids, 2 – the sum of dicocateoylquinic acids, 3 – caffeine)

с β -циклодекстрином, добавляемым непосредственно в напиток. Важно, что степень связывания ДКХК в комплекс «гость – хозяин» превышает степень связывания МКХК при неспособности кофеина внедряться в полость этого макроцикла [21]. Результаты соответствующего эксперимента представлены в табл. 2.

Из представленных данных следует, что в выбранных условиях эксперимента степень сорбции кофеина превышает 98%, но потери МКХК превышают 20%, а ДКХК – 50%. В то же время добавка β -циклодекстрина позволяет снизить эти потери более чем на 10% в случае МКХК и более чем на 50% в случае ДКХК, никак не влияя на сорбцию кофеина.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Peres R.G., Tonin F.G., Tavares M.F.M., Rodriguez-Amaya D.B. HPLC-DAD-ESI/MS identification and quantification of phenolic compounds in *Ilex paraguariensis* beverages and on-line evaluation of individual antioxidant activity // *Molecules*. 2013. Vol. 18, no. 4. P. 3859–3871. DOI: 10.3390/molecules18043859.
2. Grujic N., Lepojevic Z., Srdjenovic B., Vlastic J., Sudji J. Effects of different extraction methods and conditions on the phenolic composition of mate tea extracts // *Molecules*. 2012. Vol. 17, no. 3. P. 2518–2528. DOI: 10.3390/molecules17032518.
3. Калинин А.Я. Кофеин-друг или враг? // Компетентность. 2014. N 9–10. С. 43–51. EDN: TFNULV.
4. Сиволап Ю.П., Дамулин И.В. Кофеин и болезнь Альцгеймера // Неврологический вестник. 2017. Т. 49. N 4. С. 5–10. EDN: ZWTJL.
5. Абдурахимов А.Х., Гофурова Х.З. Кофеин и здоровье // *Life Sciences and Agriculture*. 2023. N 1. С. 1–4.
6. Bae J., Park P.S., Chun B.-Y., Choi B.Y., Kim M.K., Shin M.-H., et al. The effect of coffee, tea, and caffeine consumption on serum uric acid and the risk of hyperuricemia in Korean Multi-Rural Communities Cohort // *Rheumatology International*. 2015. Vol. 35. P. 327–336. DOI: 10.1007/s00296-014-3061-8.
7. Pietsch A. Decaffeination – process and quality // *The craft and science of coffee* / ed. B. Folmer. Academic Press, 2017. P. 225–243. DOI: 10.1016/B978-0-12-803520-7.00010-4.
8. Shiono T., Yamamoto K., Yotsumoto Y., Kawai J., Imada N., Hioki J., et al. Selective decaffeination of tea extracts by montmorillonite // *Journal of Food Engineering*. 2017. Vol. 200. P. 13–21. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2016.12.015.
9. Do Espirito Santo A.T., Siqueira L.M., Almeida R.N., Vargas R.M.F., do N Franceschini G., Kunde M.A., et al. Decaffeination of yerba mate by supercritical fluid extraction: improvement, mathematical modelling and infusion analysis // *The Journal of Supercritical Fluids*. 2021. Vol. 168. P. 105096. DOI: 10.1016/j.supflu.2020.105096.
10. European patent no. WO1998042209A1. Decaffeinated mate extracts and the use thereof / R. Maffei Facino, M. Carini, M. Mariani. *Appl. 16.03.1998*; publ. 01.10.1998.
11. Duarte M.M., de Cássia Tomasi J., Helm C.V., Amano E., Lazzarotto M., Bueno de Godoy R.C., et al. Caffeinated and decaffeinated mate tea: effect of toasting on bioactive compounds and consumer acceptance // *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. 2020. Vol. 15, no. 3. P. e8513. DOI: 10.5039/agraria.v15i3a8513.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, декофеинизацию напитка мате предложено осуществлять сорбционным методом на бентонитовой глине, добавленной к настою. Потери МКХК и ДКХК, также сорбирующихся на бентонитовой глине, предложено снизить за счет добавления непосредственно в настой β -циклодекстрина, способного образовывать комплексы включения с хлорогеновыми кислотами, при неактивности этого макроцикла по отношению к образованию комплексов «гость – хозяин» с кофеином, вследствие чего потери МКХК и ДКХК снизились в 2 раза.

12. Quintero-Jaramillo J.A., Carrero-Mantilla J.I., Sanabria-González N.R. A review of caffeine adsorption studies onto various types of adsorbents // *The Scientific World Journal*. 2021. P. 9998924. DOI: 10.1155/2021/9998924.
13. Suarez-Quiroz M.L., Campos A.A., Alfaro G.V., Gonzalez-Rios O., Villeneuve P., Figueroa-Espinoza M.C. Isolation of green coffee chlorogenic acids using activated carbon // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2014. Vol. 33, no. 1. P. 55–58. DOI: 10.1016/j.jfca.2013.10.005.
14. Дейнека В.И., Олейниц Е.Ю., Дейнека Л.А. Хроматографическое поведение монокофеоилхинных и дикофеоилхинных кислот в условиях ОФ ВЭЖХ: зависимость от строения // Сорбционные и хроматографические процессы. 2021. Т. 21. N 4. С. 458–465. DOI: 10.17308/sorpchrom.2021.21/3628. EDN: BTSLDP.
15. Андреева Е.Ю., Тан Ц., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Определение кофеина, теобромона и теофиллина в чае методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2010. Т. 10. N 6. С. 805–812. EDN: NCVBL.
16. Блинова И.П., Олейниц Е.Ю., Саласина Я.Ю., Дейнека В.И., Ань В.Т.Н., Ань Н.В. Одновременное определение хлорогеновых кислот и кофеина в кофе методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Известия высших учебных заведений. Серия Химия и химическая технология*. 2023. Т. 66. N 2. С. 45–52. DOI: 10.6060/ivkkt.20236602.6711. EDN: JYRGMN.
17. Deineka V.I., Doronin A.G., Deineka L.A., Oleinits E.Yu. Retention of cyclodextrins under the conditions of reversed-phase chromatography and determining the stability constants of inclusion complexes of antocyanins with β -cyclodextrin // *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2018. Vol. 92. P. 2325–2329. DOI: 10.1134/S0036024418110079.
18. Gebara K.S., Gasparotto-Junior A., Santiago P.G., Cardoso C.A.L., de Souza L.M., Morand C., et al. Daily intake of chlorogenic acids from consumption of maté (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) traditional beverages // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017. Vol. 65, no. 46. P. 10093–10100. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b04093.
19. Butiuk A.P., Martos M.A., Adachic O., Hours R.A. Study of the chlorogenic acid content in yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): effect of plant fraction, processing step and harvesting season // *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2016. Vol. 3, no. 1. P. 27–33. DOI: 10.1016/j.jarmap.2015.12.003.

20. Monteiro M., Farah A., Perrone D., Trugo L.C., Donangelo C. Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans // *The Journal of Nutrition*. 2007. Vol. 137, no. 10. P. 2196–2201. DOI: 10.1093/jn/137.10.2196.

21. Oleinits E.Yu., Deineka V.I., Blinova I.P., Deineka L.A. Selectivity control of dicaffeoylquinic acids separation in reversed-phase HPLC with β -cyclodextrine in a mobile phase // *Известия высших учебных заведений. Серия Химия и химическая технология*. 2022. Т. 65. N 7. С. 54–60. DOI: 10.6060/ivkkt.20226507.6599. EDN: YBXVOE.

REFERENCES

1. Peres R.G., Tonin F.G., Tavares M.F.M., Rodriguez-Amaya D.B. HPLC-DAD-ESI/MS identification and quantification of phenolic compounds in *Ilex paraguariensis* beverages and on-line evaluation of individual antioxidant activity. *Molecules*. 2013;18(4):3859–3871. DOI: 10.3390/molecules18043859.

2. Grujic N., Lepojevic Z., Srdjenovic B., Vlastic J., Sudji J. Effects of different extraction methods and conditions on the phenolic composition of mate tea extracts. *Molecules*. 2012;17(3):2518–2528. DOI: 10.3390/molecules17032518.

3. Kalinin A.Ya. Caffeine: friend or foe? *Competency (Russia)*. 2014;9-10:43–51. (In Russian). EDN: TFNULV.

4. Sivolap Yu.P., Damulin I.V. Caffeine and Alzheimer's disease. *Neurology Bulletin*. 2017;49(4):5–10. (In Russian). EDN: ZWTIJL.

5. Abdurakhimov A.Kh., Gofurova Kh.Z.. Caffeine and health. *Life Sciences and Agriculture*. 2023;1:1–4. (In Russian).

6. Bae J., Park P.S., Chun B.-Y., Choi B.Y., Kim M.K., Shin M.-H., et al. The effect of coffee, tea, and caffeine consumption on serum uric acid and the risk of hyperuricemia in Korean Multi-Rural Communities Cohort. *Rheumatology International*. 2015;35:327–336. DOI: 10.1007/s00296-014-3061-8.

7. Pietsch A. Decaffeination – process and quality. In: Folmer B. (ed.). *The craft and science of coffee*. Academic Press; 2017, p. 225–243. DOI: 10.1016/B978-0-12-803520-7.00010-4.

8. Shiono T., Yamamoto K., Yotsumoto Y., Kawai J., Imada N., Hioki J., et al. Selective decaffeination of tea extracts by montmorillonite. *Journal of Food Engineering*. 2017;200:13–21. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2016.12.015.

9. Do Espirito Santo A.T., Siqueira L.M., Almeida R.N., Vargas R.M.F., do N Franceschini G., Kunde M.A., et al. Decaffeination of yerba mate by supercritical fluid extraction: improvement, mathematical modelling and infusion analysis. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2021;168:105096. DOI: 10.1016/j.supflu.2020.105096.

10. Maffei Facino R., Carini M., Mariani M. *Decaffeinated mate extracts and the use thereof*. European patent, no. W01998042209A1; 1998.

11. Duarte M.M., de Cássia Tomasi J., Helm C.V., Amano E., Lazzarotto M., Bueno de Godoy R.C., et al. Caffeinated and decaffeinated mate tea: effect of roasting on bioactive compounds and consumer acceptance. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. 2020;15(3):e8513. DOI: 10.5039/agraria.v15i3a8513.

12. Quintero-Jaramillo J.A., Carrero-Mantilla J.I., Sanabria-González N.R. A review of caffeine adsorption studies onto various types of adsorbents. *The Scientific World Journal*. 2021;9998924. DOI: 10.1155/2021/9998924.

13. Suarez-Quiroz M.L., Campos A.A., Alfaro G.V., Gonzalez-Rios O., Villeneuve P., Figueroa-Espinoza M.C. Isolation of green coffee chlorogenic acids using activated carbon. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2014;33(1):55–58. DOI: 10.1016/j.jfca.2013.10.005.

14. Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Deineka L.A. Chromatographic behavior of mono-caffeoylquinic and di-caffeoylquinic acids under the conditions of reversed-phase HPLC: structural dependences. *Sorption and Chromatography processes*. 2021;21(4):458–465. (In Russian). DOI: 10.17308/sorpchrom.2021.21/3628. EDN: BLSLDP.

15. Andreeva E.Yu., Tang J., Dmitrienko S.G., Zolotov Yu.A. Determination of caffeine, theobromine and theophylline in tea by reversed-phase high-performance liquid chromatography method. *Sorption and Chromatography processes*. 2010;10(6):805–812. (In Russian). EDN: NCVBLL.

16. Blinova I.P., Oleinits E.Yu., Salasina Ya.Yu., Deineka V.I., Anh V.T.N., Anh N.V. Simultaneous determination of chlorogenic acids and caffeine by reversed-phase HPLC. *ChemChemTech*. 2023;66(2):45–52. (In Russian). DOI: 10.6060/ivkkt.20236602.6711. EDN: JYRGMN.

17. Deineka V.I., Doronin A.G., Deineka L.A., Oleinits E.Yu. Retention of cyclodextrins under the conditions of reversed-phase chromatography and determining the stability constants of inclusion complexes of antocyanins with β -cyclodextrin. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2018;92:2325–2329. DOI: 10.1134/S0036024418110079.

18. Gebara K.S., Gasparotto-Junior A., Santiago P.G., Cardoso C.A.L., de Souza L.M., Morand C., et al. Daily intake of chlorogenic acids from consumption of maté (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) traditional beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017;65(46):10093–10100. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b04093.

19. Butiuk A.P., Martos M.A., Adachic O., Hours R.A. Study of the chlorogenic acid content in yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): effect of plant fraction, processing step and harvesting season. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2016;3(1):27–33. DOI: 10.1016/j.jarmap.2015.12.003.

20. Monteiro M., Farah A., Perrone D., Trugo L.C., Donangelo C. Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans. *The Journal of Nutrition*. 2007;137(10):2196–2201. DOI: 10.1093/jn/137.10.2196.

21. Oleinits E.Yu., Deineka V.I., Blinova I.P., Deineka L.A. Selectivity control of dicaffeoylquinic acids separation in reversed-phase HPLC with β -cyclodextrine in a mobile phase. *ChemChemTech*. 2022;65(7):54–60. DOI: 10.6060/ivkkt.20226507.6599. EDN: YBXVOE.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Дейнека Виктор Иванович,
д.х.н., профессор, профессор,
Белгородский государственный национальный
исследовательский университет,
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,
Российская Федерация,
deineka@bsuedu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3971-2246>

Олейниц Елена Юрьевна,
к.х.н., доцент,
Белгородский государственный национальный
исследовательский университет,
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,
Российская Федерация,
✉ oleinits_e@bsuedu.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2065-6296>

Фарафонова Мария Сергеевна,
аспирант,
Белгородский государственный национальный
исследовательский университет,
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,
Российская Федерация,
1126327@bsu.edu.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3859-9138>

Дейнека Людмила Александровна,
к.х.н., доцент, доцент,
Белгородский государственный национальный
исследовательский университет,
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,
Российская Федерация,
deyneka@bsu.edu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4101-2468>

Чулков Андрей Николаевич,
к.х.н., главный специалист,
Белгородский филиал Центра оценки
качества зерна и продуктов его переработки,
308027, г. Белгород, ул. Щорса, 8,
Российская Федерация,
ach87@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7904-1424>

Вклад авторов

В.И. Дейнека – научное руководство,
разработка концепции, проведение
исследования, написание черновика рукописи.
Е.Ю. Олейниц – проведение исследования,
написание черновика рукописи.
М.С. Фарафонова – формальный анализ.
Л.А. Дейнека – курирование данных,
редактирование рукописи.
А.Н. Чулков – формальный анализ.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Victor I. Deineka,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Professor,
Belgorod State National Research University,
85, Pobedy St., Belgorod, 308015,
Russian Federation,
deineka@bsuedu.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3971-2246>

Elena Yu. Oleinits,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Belgorod State National Research University,
85, Pobedy St., Belgorod, 308015,
Russian Federation,
✉ oleinits_e@bsuedu.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2065-6296>

Maria S. Farafonova,
Postgraduate Student,
Belgorod State National Research University,
85, Pobedy St., Belgorod, 308015,
Russian Federation,
1126327@bsu.edu.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3859-9138>

Lyudmila A. Deineka,
Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Associate Professor,
Belgorod State National Research University,
85, Pobedy St., Belgorod, 308015,
Russian Federation,
deyneka@bsu.edu.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6692-4482>

Andrey N. Chulkov,
Cand. Sci. (Chemistry), Chief Specialist,
Belgorod Branch of the Center for Grain
and Processed Products Quality Assessment,
8, Shchors St., Belgorod, 308027,
Russian Federation,
ach87@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7904-1424>

Contribution of the authors

Victor I. Deineka – supervision, conceptualization,
investigation, writing – original draft.
Elena Yu. Oleinits – investigation,
writing – original draft.
Maria S. Farafonova – formal analysis.
Lyudmila A. Deineka – data curation, editing.
Andrey N. Chulkov – formal analysis.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 04.10.2024.
Одобрена после рецензирования 07.02.2025.
Принята к публикации 08.09.2025.

Conflict of interest

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 04.10.2024.
Approved after reviewing 07.02.2025.
Accepted for publication 08.09.2025.



Нетрадиционные дрожжи *Meurozyma guilliermondii* Y-780 в качестве продуцента белка при глубинной ферментации гидролизата отходов лесопиления

Е.И. Стрекаловская✉, Л.А. Беловежец

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

Аннотация. В настоящее время суммарная оценка объема отходов древесины в России составляет 75–113 млн м³ в год, а их конверсия в разнообразные целевые продукты (источники биоэнергии, кормовые добавки, органические кислоты и др.) считается приоритетным направлением государственной экологической политики Российской Федерации. В работе представлены результаты получения белкового продукта на основе биомассы нетрадиционных дрожжей *Meurozyma guilliermondii* Y-780, культивируемой на гидролизате отходов лесопиления. В первые двое суток культивирования отмечалась утилизация основного количества редуцирующих веществ дрожжами наряду с активным накоплением биомассы. При варьировании водородного показателя питательной среды интенсивный рост дрожжей *Meurozyma guilliermondii* Y-780 на гидролизате отмечался при pH 4,6. Обогащение минеральной среды на основе гидролизата кукурузным экстрактом увеличивало выход биомассы дрожжей почти в 3 раза по сравнению со средами с неорганическими источниками азота. На основании проведенных исследований была выявлена динамика потребления редуцирующих веществ дрожжами в зависимости от состава питательной среды. Повышение питательной ценности гидролизата за счет введения в среду дополнительного источника азота, витаминов и биогенных элементов позволило увеличить выход сырого протеина до 47%. Полученные данные свидетельствуют о биологической доброкачественности гидролизата древесных опилок, а также о высоком биотехнологическом потенциале *Meurozyma guilliermondii* Y-780 для получения кормового белка.

Ключевые слова: дрожжи, *Meurozyma guilliermondii*, биосинтез белка, отходы лесопиления, гидролизат

Благодарности. Авторы выражают благодарность ведущим инженерам Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН И.В. Старченко и В.Н. Трофимову за помощь в проведении исследования.

Финансирование. Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН в рамках государственного задания «Разработка биотехнологических решений экологических проблем промышленных производств» (№ 124022100043-5).

Для цитирования: Стрекаловская Е.И., Беловежец Л.А. Нетрадиционные дрожжи *Meurozyma guilliermondii* Y-780 в качестве продуцента белка при глубинной ферментации гидролизата отходов лесопиления // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 403–411. DOI: 10.21285/achb.992. EDN: ASYDTH.

Non-conventional yeast *Meyerozyma guilliermondii* strain Y-780 as a protein producer in the submerged fermentation of sawmill waste hydrolysate

Elena I. Strekalovskaya✉, Lyudmila A. Belovezhets

A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The annual generation of wood waste in the Russian Federation is currently estimated at 75–113 million cubic meters. The conversion of these lignocellulosic residues into value-added products, including bioenergy sources, feed additives, and organic acids, constitutes a priority within the nation's environmental policy framework. This study details the production of a protein-rich product from the biomass of the non-conventional yeast *Meyerozyma guilliermondii* strain Y-780 cultivated on a hydrolysate derived from sawmill waste. An analysis of the cultivation process revealed that the yeast metabolized the bulk of reducing substances within the first 48 hours, concomitant with a phase of vigorous biomass accumulation. The investigation of the pH influence revealed that the strain Y-780 of *Meyerozyma guilliermondii* exhibited substantial yeast growth on the hydrolysate at a pH of 4.6. The incorporation of corn extract into the mineral culture medium based on the hydrolysate led to an almost threefold increase in biomass yield compared to media containing only inorganic nitrogen sources. The research established a distinct consumption profile for reducing substances by the yeast, which was highly dependent on the composition of the culture medium. The addition of nitrogen, vitamins, and biogenic elements to the hydrolysate resulted in an enhancement of its nutritional value, leading to an increase in crude protein yield to 47%. These findings suggest the biological suitability of the wood sawdust hydrolysate and underscore the significant biotechnological potential of *Meyerozyma guilliermondii* strain Y-780 for feed protein biosynthesis.

Keywords: yeast, *Meyerozyma guilliermondii*, protein biosynthesis, sawmill waste, hydrolysate

Acknowledgements. The authors express their gratitude to leading engineers I.V. Starchenko and V.N. Trofimov of the A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

Funding. This work was financed by the budget of A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS within the framework of the state assignment "Development of biotechnological solutions to environmental problems of industrial production" (no. 124022100043-5).

For citation: Strekalovskaya E.I., Belovezhets L.A. Non-conventional yeast *Meyerozyma guilliermondii* strain Y-780 as a protein producer in the submerged fermentation of sawmill waste hydrolysate. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):403-411. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.992. EDN: ASYDTH.

ВВЕДЕНИЕ

Дрожжи в качестве продуцентов ценных биологически активных веществ занимают важное место в современной биотехнологии. *Meyerozyma guilliermondii* (семейство Saccharomycetaceae) – аскомицетные мезофильные дрожжи, широко распространенные в природе (почва, вода, воздух) [1, 2]. Как экспериментальный штамм *M. guilliermondii* относится к первому уровню биобезопасности. Он привлекает все большее внимание благодаря своим уникальным биохимическим характеристикам, включая широкий спектр использования различных субстратов, состоящих в том числе из возобновляемого сырья с целью получения различных метаболитов. Поскольку растет интерес к биосинтезу белка в качестве кормовой добавки в животноводстве (в том числе и для аквакультуры) [3], исследование способности к синтезу белка этим малоизученным штаммом является весьма актуальным. *M. guilliermondii*

в отличие от *Saccharomyces cerevisiae* обладают естественной способностью сбраживать как пентозы, так и гексозы [2, 4], которые содержатся в гидролизатах древесного сырья. Это представляет практический интерес, так как в деревообрабатывающей промышленности образуется огромное количество мягких и твердых древесных отходов, суммарный объем которых по прогнозам к 2030 г. составит 100–189 млн м³ в год. До 45% данных отходов остаются невостребованными, в результате происходит загрязнение ими водной, воздушной и наземной среды, что ведет в конечном итоге к экономическим потерям. В свою очередь древесные отходы – это ценное вторичное сырье, эффективное использование которого возможно во многих отраслях хозяйства [5–7].

В связи с вышесказанным целью проведенного исследования заключалась в оценке биотехнологического потенциала нетрадиционных дрожжей *M. guilliermondii*

Y-780 для производства кормового белка с использованием в качестве субстрата гидролизата отходов лесопиления (опилки сосны и лиственницы, 1:1).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования являлся штамм дрожжей *M. guilliermondii* Y-780, предоставленный Всероссийской коллекцией промышленных микроорганизмов (НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва).

Культуру *M. guilliermondii* Y-780 выращивали на питательной среде для роста дрожжей YPD (от англ.: yeast extract peptone dextrose) с pH 6,0 следующего состава, г/л: глюкоза – 20; дрожжевой экстракт – 5; пептон – 10 [8]. Культивирование проводилось на орбитальном шейкере-инкубаторе ES-20 (130 об/мин) в колбах Эрленмейера объемом 250 мл при температуре 37 °С в течение 7 суток. Для подсчета количества дрожжевых клеток в культуральной жидкости использовали косвенный метод (турбидиметрию). Оптическую плотность культуральной жидкости определяли на спектрофотометре UNICO 2800 при длине волны 585 нм (OD585) в кюветах шириной 10 мм. Количественный учет дрожжей проводили методом глубинного посева десятикратных разведений культуральной жидкости на твердую питательную среду YPD. Уравнение, описывающее взаимосвязь числа колониеобразующих единиц (КОЕ) с оптической плотностью культуральной жидкости, имело следующий вид:

$$y = 107,03x - 26,819.$$

Для получения растворов моносахаридов проводили щадящий гидролиз отходов лесопиления (опилки сосны и лиственницы) серной кислотой¹. Эксперимент проводился в несколько этапов в следующих условиях:

1) гидролиз – обработка сырья (опилки) 72%-й серной кислотой при гидромодуле 1:5,6 без нагревания в течение 3 ч;

2) инверсия при повышенной температуре (кипчение) в течение 3 ч с добавлением воды до 6,5%-й концентрации кислоты;

3) нейтрализация гидролизата после инверсии (инверт) до pH 4,5–5,0 с помощью аммиака (NH₃) или негашеной извести (CaO). После этого активированным углем производилось осветление освобожденного от осадка гидролизата (нейтрализата). Содержание редуцирующих веществ (РВ) определяли фенол-сернокислотным методом [9, 10] с калибровкой по глюкозе. Состав гидролизата отходов лесопиления представлен в табл. 1.

Таблица 1. Состав полученного гидролизата опилок сосны и лиственницы

Table 1. Composition of hydrolyzed pine and larch sawdust

Показатель	Значение, % от а.с.с.
Содержание экстрактивных веществ	4,5
Лигнин	31,3
Углеводная часть, в пересчете на редуцирующие вещества	52,5

Посевной материал (инокулят) в количестве 2% с концентрацией (231–239)×10⁶ КОЕ/мл вносили в 4 варианта питательных сред:

– среда № 1: гидролизат отходов лесопиления с концентрацией РВ 15,9 г/л, pH 4,6; дополнительные биогенные вещества в питательную среду не вводили;

– среда № 2: минеральная среда на основе гидролизата следующего состава, г/л: (NH₄)₂SO₄ – 5; KH₂PO₄ – 1,5; K₂HPO₄ – 1; MgSO₄, NaCl – 0,5; CaCl₂ – 0,02; MnSO₄, ZnSO₄, FeSO₄, CuSO₄ – 0,001; pH варьировали в разных экспериментах (1,6; 3,3; 4,6 и 6,0);

– среда № 3: гидролизат с добавлением кукурузного экстракта (2%); pH 4,6;

– среда № 4: минеральная среда на основе гидролизата с добавлением кукурузного экстракта (2%); pH 4,6.

Культивирование проводили при тех же условиях в течение 7 суток. Каждый эксперимент проводился в трех повторностях. В качестве контроля использовали неинкубированный образец каждой из культуральных сред. В культуральной жидкости из опытных колб ежедневно контролировали pH, содержание дрожжей, КОЕ/мл, и РВ. Измерение pH проводили с помощью pH-метра OHAUS ST10. Концентрация РВ в гидролизате определялась до засева штамма дрожжей, а также через 24, 48, 72, 96 и 168 ч культивирования спектрофотометрически при оптической плотности 490 с использованием фенол-сернокислотного метода [9, 10]. Эффективность конверсии РВ рассчитывали на основе методики, описанной в работе [11]. По окончании культивирования рассчитывали прирост и выход биомассы дрожжей (сырой и сухой, г/л). После этого супернатанты содержимого каждой опытной колбы центрифугировали при 3500 об/мин в течение 20 мин. Отцентрифугированную биомассу *M. guilliermondii* Y-780 использовали для определения содержания белка в биомассе клеток после сушки при 60 °С до достижения постоянного веса. Содержание азота, %, в полученных образцах определяли методом Дюма, массовую долю сырого протеина, %, определяли классическим методом Кьельдаля в соответствии с требованиями ГОСТ Р 57221-2016². Статистическую обработку данных проводили в программе Microsoft Excel.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Биологическая доброкачественность гидролизата опилок сосны и лиственницы оценивалась по накоплению биомассы дрожжей (рис. 1). Начальная фаза (лаг-фаза) роста *M. guilliermondii* Y-780 при культивировании не наблюдалась. Активный рост дрожжей приходился на первые 3 суток культивирования (185×10⁶ КОЕ/мл), что соответствует экспоненциальной (логарифмической) стадии роста. С 4-х суток культивирования регистрировался переход в стационарную фазу роста.

Концентрация РВ в гидролизате в процессе эксперимента снижалась с 15,9 до 1,9 г/л, при этом наиболее активная утилизация сахаров происходила также в течение первых трех суток (72 ч) культивирования, что соответствует периоду, в котором клетки размножаются с максимальной для данной культуры скоростью, генетически заложенной в клетке. Ежедневная утилизация сахаров составляла от 2,3 до 4,6 г/л. Активное потребление

¹Холькин Ю.И. Технология гидролизных производств: учебник для вузов. М.: Лесная промышленность, 1989. 495 с.

²ГОСТ Р 57221-2016. Дрожжи кормовые. Методы испытаний. М.: Стандартинформ, 2016. 57 с.

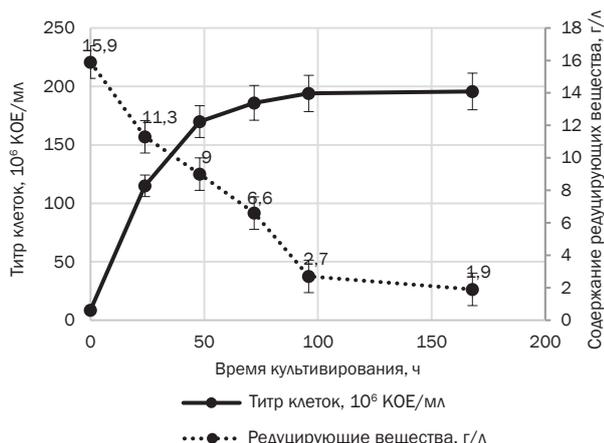


Рис. 1. Динамика роста и потребления редуцирующих веществ дрожжами *Meyerozyma guilliermondii* Y-780 на гидролизате опилок в процессе культивирования

Fig. 1. Dynamics of growth and consumption of reducing substances by yeast *Meyerozyma guilliermondii* Y-780 on sawdust hydrolysate during cultivation

сахаров дрожжами (штамм *Saccharomyces cerevisiae* TMВ3500) в первые дни культивирования на гидролизате щепы ели подтверждается в работе Дж.Р. Алмейда с соавторами [12]. При переходе в стационарную фазу роста утилизация сахаров снижалась и составляла 0,8 г/л

в сумме за 3 последних дня культивирования. Эффективность конверсии РВ в гидролизате в процессе накопления биомассы дрожжей составляла 87,5% (табл. 2). В конце культивирования количество дрожжей достигло 195×10^6 КОЕ/мл, при этом сырая и сухая биомасса составляла 19 и 4,3 г/л используемого гидролизата соответственно. Массовая доля сырого протеина в сухой дрожжевой биомассе была низкой и составляла 20,6% (табл. 3).

Как видно из графика, представленного на рис. 2, внесение минеральных солей в питательную среду существенно не влияло на кинетику роста дрожжей *M. guilliermondii* Y-780. В данном случае отличимых значений по накоплению биомассы от культивирования в гидролизате без биогенных элементов не наблюдалось. Первоначальное увеличение плотности дрожжевых клеток происходило активнее в среде на основе только одного гидролизата. Так, через 24 ч культивирования титр клеток составлял 114×10^6 КОЕ/мл против 71×10^6 КОЕ/мл в среде гидролизата с минеральными солями. В последующие сутки культивирования рост биомассы выравнивался. Однако потребление РВ *M. guilliermondii* Y-780 при культивировании на среде гидролизата с минеральными солями снижалось уже на 2-е сутки культивирования до 2,6 г/л. Биомасса дрожжей, полученная на гидролизате с минеральными солями, характеризовалась вдвое более высоким содержанием сырого протеина (38,6%), чем при использовании только одного гидролизата (см. табл. 3).

Таблица 2. Эффективность конверсии редуцирующих веществ при культивировании дрожжей *Meyerozyma guilliermondii* Y-780 на разных питательных средах

Table 2. Efficiency of reducing substances conversion during cultivation of yeast *Meyerozyma guilliermondii* Y-780 on different nutrient media

Питательная среда	Начальное содержание редуцирующих веществ, г/л	Конечное содержание редуцирующих веществ (после 7 суток культивирования), г/л	Эффективность конверсии редуцирующих веществ, %
Гидролизат	15,9±0,8	1,9±0,4	87,5
Гидролизат + МС (рН 3,3)	14,4±0,4	1,0±0,1	93,1
Гидролизат + МС (рН 4,6)	14,8±0,8	1,9±0,1	87,2
Гидролизат + МС (рН 6,0)	14,3±0,6	1,5±0,2	90,0
Гидролизат + КЭ (2%)	12,7±0,8	1,4±0,0	89,0
Гидролизат + МС + КЭ (2%)	12,1±0,3	1,5±0,1	87,6

Примечание. Здесь и в табл. 3 МС – минеральные соли; КЭ – кукурузный экстракт.

Таблица 3. Содержание сырого протеина и азота в накопленной биомассе *Meyerozyma guilliermondii* Y-780 в процессе культивирования на разных питательных средах

Table 3. Protein and nitrogen content in the accumulated biomass of *Meyerozyma guilliermondii* Y-780 during cultivation on different nutrient media

Среда культивирования	Количество дрожжей, КОЕ/мл	Абсолютно сухая биомасса, г/л	Содержание азота, %	Массовая доля сырого протеина, %
Гидролизат	$195 \times 10^6 \pm 0,2$	4,30±0,1	2,32±0,2	20,6±1,0
Гидролизат + МС (рН 3,3)	$210 \times 10^6 \pm 0,8$	3,03±0,0	3,26±0,5	38,4±0,0
Гидролизат + МС (рН 4,6)	$185 \times 10^6 \pm 0,7$	3,11±0,3	4,73±0,2	38,6±0,1
Гидролизат + МС (рН 6,0)	$115 \times 10^6 \pm 0,2$	3,30±0,2	4,51±0,1	34,9±3,6
Гидролизат + КЭ (2%)	$332 \times 10^6 \pm 1,3$	6,02±0,7	4,24±0,7	42,1±0,0
Гидролизат + МС + КЭ (2%)	$633 \times 10^6 \pm 6,4$	5,70±0,1	4,90±0,1	47,0±0,9
Глюкоза (0,5%, контроль)	–	1,77±0,0	6,19±0,1	38,7±0,0

Примечание. Прочерк – данные отсутствуют.

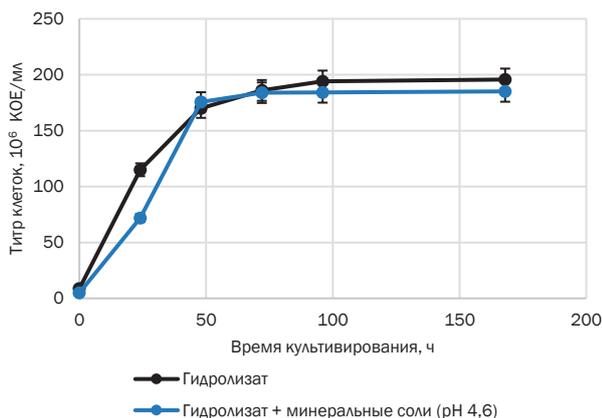


Рис. 2. Сравнение динамики роста дрожжей на гидролизате без добавления и с добавлением минеральных солей

Fig. 2. Comparison of the growth dynamics of yeast on hydrolysate without and with the addition of mineral salts

Следующим этапом исследования было варьирование pH (1,6–6,0) питательной среды на основе гидролизата с добавлением минеральных солей (рис. 3). Подкисление pH среды до 1,6 снижало доброкачественность гидролизата, что выражалось в снижении количества биомассы дрожжей (573×10^3 КОЕ/мл). Максимальный прирост биомассы в 1-е сутки культивирования (до 161×10^6 КОЕ/мл) наблюдался при pH 3,3. При высокой скорости накопления дрожжевой биомассы уже на 3-и сутки наблюдался переход в стационарную фазу роста. К окончанию культивирования содержание дрожжей в культуральной среде достигало 210×10^6 КОЕ/мл. Низкий pH (3,3) способствовал метаболизму дрожжей. Уже с 1-х суток культивирования исследуемые дрожжи активно потребляли РВ в гидролизате с минеральными солями, убыль составила 70,8%. При повышении pH среды наблюдалось снижение накопления биомассы дрожжей. Так, при pH 4,6 к 7-м суткам культивирования популяционная плотность дрожжей составляла 185×10^6 КОЕ/мл, при pH 6,0 – 115×10^6 КОЕ/мл. Потребление основного количества РВ (83–84%) происходило в течение 2 суток культивирования с последующим медленным снижением к 7-м суткам до 1,9 и 1,5 г/л РВ в культуральной среде при pH 4,6 и 6,0 соответственно. Интенсивный рост и размножение дрожжей на гидролизатах растительного и древесного сырья, согласно литературным данным, происходит при pH в пределах 3,8–5,0 [13, 14], что согласуется с нашими данными. Таким образом, наиболее продуктивной по выходу биомассы оказалась питательная среда с pH 3,3, однако более выигрышные результаты по совокупности двух показателей – титру клеток и массовой доле сырого протеина – были получены на среде с pH 4,6. В связи с этим дальнейшие эксперименты по ферментации гидролизата отходов лесопиления исследуемыми дрожжами *M. guilliermondii* Y-780 проводились при pH среды культивирования 4,6.

Несмотря на высокую эффективность конверсии РВ (90,0–93,1%) дрожжами в средах с начальным pH 3,3 и 6,0, рост дрожжей на средах с неорганическими источниками азота (минеральные соли) был ниже по сравнению со средами, в которые вносили органические источники азота (кукурузный экстракт). Добавление в

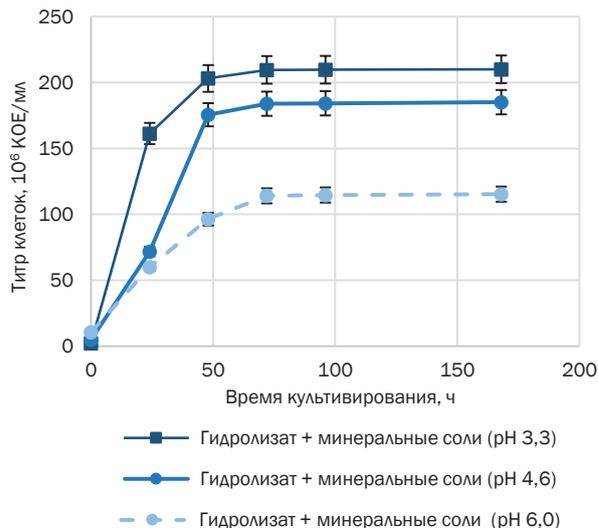


Рис. 3. Накопление биомассы дрожжей *Meyerozyma guilliermondii* Y-780 при культивировании на среде на основе гидролизата опилок с добавлением минеральных солей при разном значении pH среды

Fig. 3. Accumulation of *Meyerozyma guilliermondii* Y-780 yeast biomass during cultivation on a medium based on sawdust hydrolysate with the addition of mineral salts at different pH values of the medium

гидролизат кукурузного экстракта не ускорило накопление биомассы дрожжами в первые 2 суток культивирования. Рост дрожжей протекал интенсивнее с 3-х суток культивирования. При этом число клеток дрожжей, КОЕ/мл, по завершении культивирования на питательной среде гидролизат + кукурузный экстракт (2%) в 1,6–2,9 раза больше, чем при культивировании на питательных средах на основе гидролизата с добавлением минеральных солей, и в 1,7 раза больше, чем при культивировании на чистом гидролизате опилок (рис. 4).

Как видно из графика, представленного на рис. 4, источники азота, витаминов, стимуляторов роста (кукурузный экстракт) и минеральных солей существенно влияют на кинетику роста дрожжей *M. guilliermondii* Y-780 только с 4-х суток культивирования. Наблюдался резкий скачок в накоплении биомассы дрожжей с 171×10^6 КОЕ/мл (4-е сутки культивирования) до 633×10^6 КОЕ/мл (7-е сутки культивирования). При этом активное потребление основного количества РВ осуществлялось дрожжами в 1-е сутки культивирования.

Экспериментальные питательные среды имели преимущество перед контрольной средой (глюкоза 0,5%) как по накоплению абсолютно сухой биомассы дрожжей, так и по содержанию в ней белка (см. табл. 3).

Еще одним важным биотехнологическим параметром является pH питательной среды. Дрожжи в процессе культивирования способны снижать pH культуральной жидкости за счет активной работы протонных помп. Это имеет фундаментальное значение для их активности и защиты от стресса [15, 16]. Исследования, проведенные при различных значениях pH, выявили интересные закономерности (рис. 5). Так, использование в виде источника азота минеральных солей приводило к значительному (на 1,0–1,6) снижению pH с 3-х суток культивирования. Исключение составляет вариант с

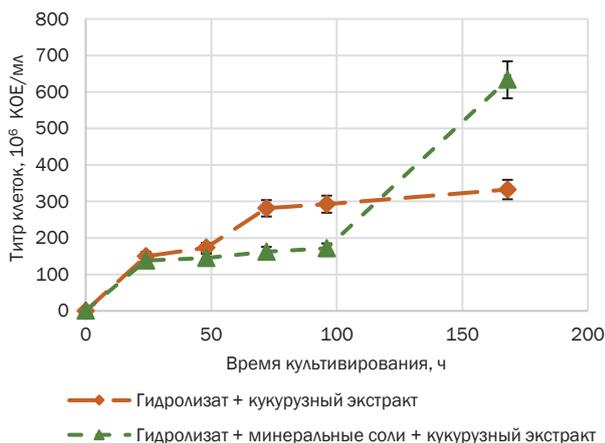


Рис. 4. Влияние кукурузного экстракта на динамику роста дрожжей *Meyerozyma guilliermondii* Y-780

Fig. 4. Effect of corn steep liquor on the growth dynamics of *Meyerozyma guilliermondii* Y-780 yeast

начальным уровнем pH 4,6. В данном случае pH был стабилен в течение всего срока культивирования. Скорее всего, это связано тем, что при культивировании дрожжей на минеральных средах, содержащих в качестве единственного источника азота аммоний, а также фосфаты, начинался активный процесс обмена веществ, сопровождающийся ростом дрожжевой массы с одновременным образованием некоторых органических кислот через дезаминирование с последующим их выделением, что в итоге приводило к снижению pH окружающей среды.

При добавлении в питательную среду кукурузного экстракта (источника органического азота и витаминов) мы наблюдаем обратную картину. pH, пройдя минимум на 2-е сутки культивирования, растет и стабилизируется на уровне 5,7. В этом случае мы не отмечаем влияния минеральных солей. Вероятно, это связано с более сбалансированным составом среды [17].

На основании проведенных исследований было установлено, что степень накопления белка биомассой дрожжей коррелирует с увеличением питательной ценности субстрата. При этом наиболее значимую роль играет добавка кукурузного экстракта. Массовая доля белка в этом варианте на 7-е сутки культивирования составила 47% (см. табл. 2). В схожем исследовании при использовании в качестве продуцента *M. guilliermondii* ATCC 6260 при ферментации гидролизата жома сахарной свеклы (РВ 60 г/л) получена биомасса с содержанием сырого протеина 49,2% [18]. В работе Д. Лапеня с соавторами [19] при использовании гидролизата (РВ 90 г/л) древесины ели (*Picea abies*) и куриных субпродуктов (сердце, печень и пищеварительный тракт) в качестве субстрата для культивирования нескольких видов дрожжей (*Candida utilis*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Blastobotrys adenivorans*) получено от 50,5 до 54,4% белка в дрожжевой биомассе. По совокупности представленных данных гидролизат отходов лесопиления, содержащий меньшее количество РВ (12,1–15,9 г/л), может выступать в качестве выгодной основы при разработке питательной среды для накопления дрожжевой биомассы и биосинтеза белка при производстве кормовых добавок.

По содержанию сырого протеина, %, исследуемая дрожжевая биомасса *M. guilliermondii* Y-780 может быть использована в качестве основы корма для рыб. Так, согласно ГОСТ 10385-2014³, массовая доля сырого протеина в кормах для рыб должна составлять: для сомовых рыб – не менее 45%, для лососевых и осетровых рыб – не менее 50% [20, 21]. На содержание сырого протеина влияют видовая специфичность дрожжей, питательная среда и условия культивирования. Полученные здесь значения находятся в пределах уровня белка, считающегося приемлемым в контексте производства кормовых дрожжей, содержание сырого протеина в которых обычно варьирует от 45 до 55% [22–24].

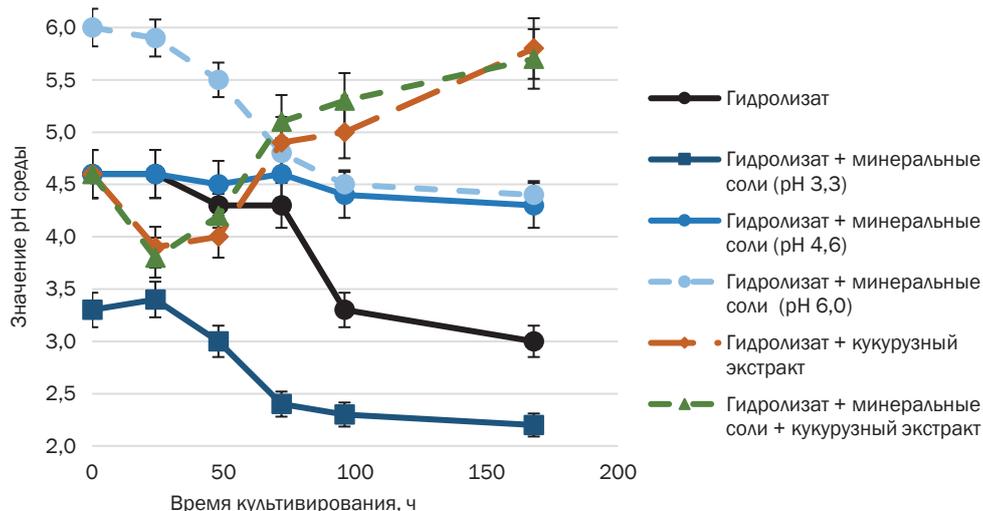


Рис. 5. Динамика кислотности среды в процессе культивирования дрожжей *Meyerozyma guilliermondii* Y-780

Fig. 5. Dynamics of medium acidity during the cultivation of yeast *Meyerozyma guilliermondii* Y-780

³ГОСТ 10385-2014 «Комбикорма для рыб. Общие технические условия. М.: Стандартинформ, 2014. 15 с.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе работы, наглядно демонстрируют, что гидролизат опилок (сосны и лиственницы) обладает потенциалом в качестве дешевого углеводного сырья и является биологически доброкачественной средой для культивирования нетрадиционных дрожжей *M. guilliermondii* Y-780 с целью получения белкового продукта. Активный процесс утилизации моносахаридов дрожжами в гидролизате отходов лесопиления приходился на первые 2 дня культивирования дрожжей, что соответствовало экспоненциальной (логарифмической) стадии роста. Выявлено, что оптимальный уровень кислотности питательной среды на основе гидролизата для культивирования *M. guilliermondii* Y-780, обеспечивающий наибольшую его доброкачественность и наименьшую агрессивность, варьирует в пределах 3,3–4,6. Метаболическая оптимизация гидролизата с использованием минеральных и органических добавок в качестве стратегии по повы-

шению питательной ценности среды позволила увеличить выход биомассы дрожжей и повысить эффективность биоконверсии отходов лесопиления в целевые биопродукты. Таким образом, состав среды, используемый для культивирования дрожжей, напрямую отражается на их физиологическом фенотипе, эффективности ферментации субстрата и поддержания pH, что, в свою очередь, влияет на выход целевых продуктов.

В заключение отметим, что это экспериментальное исследование демонстрирует возможный способ переработки малоценных лигноцеллюлозных отходов в дрожжевую биомассу, которую можно использовать в качестве высококачественного кормового ингредиента. Это позволит решить проблемы в области экологии, вызванные загрязнением окружающей среды отходами деревообработки, а также за счет снижения производственных затрат при выработке кормовой продукции решить экономические проблемы, в том числе для аквакультуры.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Knob A., Izidoro S.C., Lacerda L.T., Rodrigues A., de Lima V.A. A novel lipolytic yeast *Meyerozyma guilliermondii*: efficient and low-cost production of acid and promising feed lipase using cheese whey // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020. Vol. 24. P. 101565. DOI: 10.1016/j.bcab.2020.101565.
2. Yan W., Gao H., Qian X., Jiang Y., Zhou J., Dong W., et al. Biotechnological applications of the non-conventional yeast *Meyerozyma guilliermondii* // *Biotechnology Advances*. 2021. Vol. 46. P. 107674. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2020.107674.
3. Hamidoghli A., Yun H., Won S., Kim S., Farris N.W., Bai S.C. Evaluation of a single-cell protein as a dietary fish meal substitute for whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* // *Fisheries Science*. 2019. Vol. 85. P. 147–155. DOI: 10.1007/s12562-018-1275-5.
4. Sidana A., Kaur S., Yadav S.K. Assessment of the ability of *Meyerozyma guilliermondii* P14 to produce second-generation bioethanol from giant reed (*Arundo donax*) biomass // *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2023. Vol. 13. P. 16723–16735. DOI: 10.1007/s13399-021-02211-4.
5. Беловежец Л.А., Волчатова И.В., Медведева С.А. Перспективные способы переработки вторичного лигноцеллюлозного сырья // *Химия растительного сырья*. 2010. N 2. С. 5–16. EDN: LLZVJV.
6. Костылева С.В. Экономические и экологические аспекты комплексного использования отходов лесопереработки (на примере Иркутской области) // *Вестник Омского университета. Серия «Экономика»*. 2016. N 3. С. 184–193. EDN: WXTGGN.
7. Марченко О.В., Соломин С.В., Козлов А.Н. Возможности использования древесных отходов в энергетике России // *Экология и промышленность России*. 2019. Т. 23. N 6. С. 17–21. DOI: 10.18412/1816-0395-2019-06-17-21. EDN: TVOTJB.
8. Jayamma P., Shirnalli G.G., Goudar D.G., Olekar S.N. Isolation and identification of thermotolerant yeast isolates from different fruit wastes // *The Pharma Innovation Journal*. 2022. Vol. 11, no. 1. P. 855–859.
9. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J., Robers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // *Analytical Chemistry*. 1956. Vol. 28, no. 3. P. 350–356. DOI: 10.1021/ac60111a017.
10. Yue F., Zhang J., Xu J., Niu T., Lü X., Liu M. Effects of monosaccharide composition on quantitative analysis of total sugar content by phenol-sulfuric acid method // *Frontiers in Nutrition*. 2022. Vol. 9. P. 963318. DOI: 10.3389/fnut.2022.963318.
11. Скиба Е.А. Биосинтез кормовых дрожжей на средах, полученных из плодовых оболочек овса // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2016. Т. 6. N 3. С. 140–142. DOI: 10.21285/2227-2925-2016-6-3-140-142. EDN: WZQKFV.
12. Almeida J.R., Wiman M., Heer D., Brink D.P., Sauer U., Hahn-Hägerdal B., et al. Physiological and molecular characterization of yeast cultures pre-adapted for fermentation of lignocellulosic hydrolysate // *Fermentation*. 2023. Vol. 9, no. 1. P. 72. DOI: 10.3390/fermentation9010072.
13. Джанаев К.И., Цугкиев Б.Г. Культивирование дрожжей на питательной среде из биомассы топинамбура // *Известия Горского государственного аграрного университета*. 2012. Т. 49. N 1–2. С. 398–400. EDN: OYYRLJ.
14. Raita S., Kusnere Z., Spalvins K., Blumberga D. Optimization of yeast cultivation factors for improved SCP production // *Environmental and Climate Technologies*. 2022. Vol. 26, no. 1. P. 848–861. DOI: 10.2478/rtuect-2022-0064.
15. Жуковская С.В. Изучение влияния физико-химических факторов на образование биомассы хлебопекарных дрожжей // *Научный журнал «Евразийский Союз Ученых»*. 2015. N 4–5. С. 85–88. EDN: XDDZNH.
16. Шавел Я. Факторы стресса для дрожжевых клеток // *Пиво и напитки*. 2001. N 1. С. 24–27.
17. Hahn-Hägerdal B., Karhumaa K., Larsson S.U., Gorwa-Grauslund M., Görgens J., van Zyl W.H. Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use // *Microbial Cell Factories*. 2005. Vol. 4. P. 31. DOI: 10.1186/1475-2859-4-31.
18. Patelski P., Berłowska J., Dziugan P., Pielech-Przybylska K., Balcerk M., Dziekonska U., et al. Utilisation of sugar beet bagasse for the biosynthesis of yeast SCP // *Journal of Food Engineering*. 2015. Vol. 167. P. 32–37. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2015.03.031.

19. Lapeña D., Kosa G., Hansen L.D., Mydland L.T., Passoth V., Horn S.J., et al. Production and characterization of yeasts grown on media composed of spruce-derived sugars and protein hydrolysates from chicken by-products // *Microbial Cell Factories*. 2020. Vol. 19. P. 19. DOI: 10.1186/s12934-020-1287-6.

20. Фаткудинова Ю.В., Либерман А.А., Любимирова В.Н., Шленкина Т.М. Биологическая ценность белка в составе кормов для рыб // Профессиональное обучение: теория и практика: материалы II Междунар. науч.-практ. конф. (г. Ульяновск, 25 июня 2020 г.). Ульяновск: Изд-во УлГПУ им. И. Н. Ульянова, 2020. С. 663–667. EDN: NDAKCL.

21. Волошин Г.А., Акимов Е.Б., Артемов Р.В., Гершунская В.В. Состояние и перспективы развития рынка комбикормов для индустриальной аквакультуры в Российской Федерации // *Труды ВНИРО*. 2022. Т. 190.

C. 163–169. DOI: 10.36038/2307-3497-2022-190-163-169. EDN: ZDVXMI.

22. Ritala A., Häkkinen S.T., Toivari M., Wiebe M.G. Single cell protein – state-of-the-art, industrial landscape and patents 2001–2016 // *Frontiers in Microbiology*. 2017. Vol. 8. P. 2009. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02009.

23. Øverland M., Skrede A. Yeast derived from lignocellulosic biomass as a sustainable feed resource for use in aquaculture // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2017. Vol. 97, no. 3. P. 733–742. DOI: 10.1002/jsfa.8007.

24. Agboola J.O., Øverland M., Skrede A., Hansen J.Ø. Yeast as major protein-rich ingredient in aquafeeds: a review of the implications for aquaculture production // *Reviews in Aquaculture*. 2021. Vol. 13, no. 2. P. 949–970. DOI: 10.1111/raq.12507.

REFERENCES

1. Knob A., Izidoro S.C., Lacerda L.T., Rodrigues A., de Lima V.A. A novel lipolytic yeast *Meyerozyma guilliermondii*: efficient and low-cost production of acid and promising feed lipase using cheese whey. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020;24:101565. DOI: 10.1016/j.bcab.2020.101565.

2. Yan W., Gao H., Qian X., Jiang Y., Zhou J., Dong W., et al. Biotechnological applications of the non-conventional yeast *Meyerozyma guilliermondii*. *Biotechnology Advances*. 2021;46:107674. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2020.107674.

3. Hamidoghli A., Yun H., Won S., Kim S., Farris N.W., Bai S.C. Evaluation of a single-cell protein as a dietary fish meal substitute for whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fisheries Science*. 2019;85:147-155. DOI: 10.1007/s12562-018-1275-5.

4. Sidana A., Kaur S., Yadav S.K. Assessment of the ability of *Meyerozyma guilliermondii* P14 to produce second-generation bioethanol from giant reed (*Arundo donax*) biomass. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2023;13:16723-16735. DOI: 10.1007/s13399-021-02211-4.

5. Belovezhets L.A., Volchatova I.V., Medvedeva S.A. Promising methods for processing secondary lignocellulosic raw materials. *Chemistry of plant raw material*. 2010;2:5-16. (In Russian). EDN: LLZVJV.

6. Kostyleva S.V. Economic and environmental aspects of integrated use of forest products waste (on the example of the Irkutsk region). *Herald of Omsk University. Series "Economics"*. 2016;3:184-193. (In Russian). EDN: WXTGGN.

7. Marchenko O.V., Solomin S.V., Kozlov A.N. Possibilities of use of wood wastes in the power industry of Russia. *Ecology & Industry of Russia*. 2019;23(6):17-21. (In Russian). DOI: 10.18412/1816-0395-2019-06-17-21. EDN: TVOTJB.

8. Jayamma P., Shirnalli G.G., Goudar D.G., Olekar S.N. Isolation and identification of thermotolerant yeast isolates from different fruit wastes. *The Pharma Innovation Journal*. 2022;11(1):855-859.

9. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J., Robers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 1956;28(3):350-356. DOI: 10.1021/ac60111a017.

10. Yue F., Zhang J., Xu J., Niu T., Lü X., Liu M. Effects of monosaccharide composition on quantitative analysis of total sugar content by phenol-sulfuric acid method. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9:963318. DOI: 10.3389/fnut.2022.963318.

11. Skiba E.A. Biosynthesis of fodder yeasts in broths derived from oat hulls. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2016;6(3):140-142. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2016-6-3-140-142. EDN: WZQKVF.

12. Almeida J.R., Wiman M., Heer D., Brink D.P., Sauer U., Hahn-Hägerdal B., et al. Physiological and molecular characterization of yeast cultures pre-adapted for fermentation of lignocellulosic hydrolysate. *Fermentation*. 2023;9(1):72. DOI: 10.3390/fermentation9010072.

13. Djanaev K.I., Tsugkiev B.G. Yeast cultivation in a nutrient medium from jerusalem artichoke biomass. *Proceedings of Gorsky State Agrarian University*. 2012;49(1-2): 398-400. (In Russian). EDN: OYYRLJ.

14. Raita S., Kusnere Z., Spalvins K., Blumberga D. Optimization of yeast cultivation factors for improved SCP production. *Environmental and Climate Technologies*. 2022;26(1):848-861. DOI: 10.2478/rtuect-2022-0064.

15. Zhukovskaya S.V. Study of the influence of physicochemical factors on the formation of baker's yeast biomass. *Scientific journal "Eurasian Union of Scientists"*. 2015;4-5:85-88. (In Russian). EDN: XDDZNH.

16. Shavel Ya. Stress factors for yeast cells. *Beer and beverages*. 2001;1:24-27. (In Russian).

17. Hahn-Hägerdal B., Karhumaa K., Larsson C.U., Gorwa-Grauslund M., Görgens J., van Zyl W.H. Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use. *Microbial Cell Factories*. 2005;4:31. DOI: 10.1186/1475-2859-4-31.

18. Patelski P., Berlowska J., Dziugan P., Pielech-Przybylska K., Balcerek M., Dziekonska U., et al. Utilisation of sugar beet bagasse for the biosynthesis of yeast SCP. *Journal of Food Engineering*. 2015;167:32-37. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2015.03.031.

19. Lapeña D., Kosa G., Hansen L.D., Mydland L.T., Passoth V., Horn S.J., et al. Production and characterization of yeasts grown on media composed of spruce-derived sugars and protein hydrolysates from chicken by-products. *Microbial Cell Factories*. 2020;19:19. DOI: 10.1186/s12934-020-1287-6.

20. Fatkudinova Yu.V., Lyubomirova V.N., Shlenkina T.M. Biological value of protein in fish feed. In: *Professional'noe obuchenie: teoriya i praktika: materialy II Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. = Vocational training: theory and practice: proceedings of the 2nd Int. Sci. Pract. Conf.* 25 June 2020, Ulyanovsk. Ulyanovsk: Ulyanovsk State Pedagogical University; 2020, p. 663-667. (In Russian). EDN: NDAKCL.

21. Voloshin G.A., Akimov E.B., Artemov R.V., Gershunskaya V.V. The state and prospects of development of the feed market for industrial aquaculture in the Russian Federation. *Trudy VNIRO*. 2022;190:163-169. (In Russian). DOI: 10.36038/2307-3497-2022-190-163-169. EDN: ZDVXMI.

22. Ritala A., Häkkinen S.T., Toivari M., Wiebe M.G. Single cell protein – state-of-the-art, industrial landscape and patents 2001–2016. *Frontiers in Microbiology*. 2017;8:2009. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02009.

23. Øverland M., Skrede A. Yeast derived from lignocellulosic biomass as a sustainable feed resource for use in aquaculture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2017;97(3):733-742. DOI: 10.1002/jsfa.8007.

24. Agboola J.O., Øverland M., Skrede A., Hansen J.Ø. Yeast as major protein-rich ingredient in aquafeeds: a review of the implications for aquaculture production. *Reviews in Aquaculture*. 2021;13(2):949-970. DOI: 10.1111/raq.12507.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Стрекаловская Елена Иннокентьевна,

к.б.н., ведущий научный сотрудник,
Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
✉ ivanova.iem@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-4216-8859>

Беловежец Людмила Александровна,

д.б.н., ведущий научный сотрудник,
заведующий лабораторией,
Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
belovezhets@iriioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5922-3397>

Вклад авторов

Е.И. Стрекаловская – разработка концепции, разработка методологии, проведение исследования, визуализация, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.
Л.А. Беловежец – разработка концепции, разработка методологии, получение финансирования, административное руководство исследовательским проектом, редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 23.04.2025.
Одобрена после рецензирования 30.05.2025.
Принята к публикации 17.09.2025.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Elena I. Strekalovskaya,

Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher,
A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry,
Siberian Branch of the Russian Academy
of Sciences,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
✉ ivanova.iem@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-4216-8859>

Lyudmila A. Belovezhets,

Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher,
Head of the Laboratory,
A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry,
Siberian Branch of the Russian Academy
of Sciences,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
belovezhets@iriioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5922-3397>

Contribution of the authors

Elena I. Strekalovskaya – conceptualization, methodology, investigation, visualization, writing – original draft, editing.
Lyudmila A. Belovezhets – conceptualization, methodology, funding acquisition, project administration, editing.

Conflict of interest

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 23.04.2025.
Approved after reviewing 30.05.2025.
Accepted for publication 17.09.2025.

Научная статья
УДК 665.753.4
EDN: ARFICK
DOI: 10.21285/achb.995



Синтез и исследование свойств новых депрессорных присадок к дизельным топливам на основе сополимеров этилена и стирола

Н.П. Гоненко*✉, Т.В. Раскулова**, Л.В. Каницкая***,
И.Е. Кузора**, Н.П. Коновалов*

*Иркутский национальный исследовательский технический университет, Иркутск, Российская Федерация

**Ангарский государственный технический университет, Ангарск, Российская Федерация

***Байкальский государственный университет, Иркутск, Российская Федерация

Аннотация. Цель исследования заключалась в получении депрессорной присадки к дизельному топливу на основе полупродуктов и отходов производств предприятий «Ангарская нефтехимическая компания» и «Ангарский завод полимеров». В работе приведен краткий обзор требований к качеству дизельных топлив, продемонстрировано качество базовых дизельных топлив производства АО «Ангарская нефтехимическая компания». Дана характеристика депрессорно-диспергирующих присадок, вовлекаемых в товарные дизельные топлива на производствах, а также методов и объектов исследований. Установлен механизм взаимодействия стирола и низкомолекулярного полиэтилена в ходе процесса радикальной сополимеризации. Определены основные закономерности сополимеризации стирола и низкомолекулярного полиэтилена. Выявлена структура сополимера стирола и низкомолекулярного полиэтилена. Определен депрессорный эффект от применения присадок для базовых дизельных топлив с различными низкотемпературными характеристиками. Проиллюстрирована зависимость низкотемпературных свойств базовых дизельных топлив и концентрации присадки. Установлено, что использование новых депрессорных присадок в количестве от 0,1 до 1,0% масс. позволяет снизить температуру их застывания до минус 42 °С и обеспечить депрессию предельной температуры фильтруемости до 21 °С. Использование разработанной депрессорной присадки позволит без изменения фракционного состава на базе летнего дизельного топлива сорта А получать межсезонные дизельные топлива сортов D, E, а на базе зимнего дизельного топлива сорта D возможно производство зимних топлив класса 0, 1, 2 с более высокой добавленной стоимостью.

Ключевые слова: стирол, низкомолекулярный полиэтилен, депрессорные присадки, сополимеризация, дизельное топливо

Для цитирования: Гоненко Н.П., Раскулова Т.В., Каницкая Л.В., Кузора И.Е., Коновалов Н.П. Синтез и исследование свойств новых депрессорных присадок к дизельным топливам на основе сополимеров этилена и стирола // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 412–422. DOI: 10.21285/achb.995. EDN: ARFICK.

Synthesis and evaluation of pour-point depressants for diesel fuels based on ethylene – styrene copolymers

Nikolai P. Gonenko*✉, Tatyana V. Raskulova**, Lyudmila V. Kanitskaya***, Igor E. Kuzora**, Nikolai P. Konovalov*

*Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

**Angarsk State Technical University, Angarsk, Russian Federation

***Baikal State University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. This study aimed to synthesize a pour-point depressant for diesel fuel using intermediate products and waste materials from the Angarsk Petrochemical Company and the Angarsk Polymer Plant (Angarsk, Russia). The work provides a brief review of the quality requirements for diesel fuel and demonstrates the quality of base diesel fuels produced by Angarsk Petrochemical Company. The study characterizes the depressant-dispersant additives used in the production of commercial diesel fuels, along with the research methods and objects. The mechanism of interaction between styrene and low-molecular-weight polyethylene during radical copolymerization was established. The key patterns of the styrene and low-molecular-weight polyethylene copolymerization process were identified, and the structure of the resulting copolymer was determined. The depressor effect of the additives was assessed in base diesel fuels with different low-temperature characteristics. The relationship between the low-temperature characteristics of the base diesel fuels and the additive concentration was illustrated. The use of the novel pour-point depressants at concentrations of 0.1–1.0 wt% was found to reduce the pour point to -42 °C, thereby achieving a depression of the cold filter plugging point to 21 °C. The use of the developed pour-point depressant facilitates the production of value-added interseasonal diesel grades D and E from summer diesel grade A base fuels without altering the fractional composition. In addition, the value-added winter diesel classes O, 1, and 2 can be obtained from winter diesel grade D base fuels.

Keywords: styrene, low-molecular-weight polyethylene, pour-point depressants, copolymerization, diesel fuel

For citation: Gonenko N.P., Raskulova T.V., Kanitskaya L.V., Kuzora I.E., Konovalov N.P. Synthesis and evaluation of pour-point depressants for diesel fuels based on ethylene – styrene copolymers. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):412-422. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.995. EDN: ARFICK.

ВВЕДЕНИЕ

Научно-технический прогресс приводит к постоянному повышению требований к качеству горюче-смазочных материалов, в том числе дизельного топлива. Так, согласно ГОСТ 32511-2013¹, действующему на территории Российской Федерации, для дизельного топлива нормируют более 20 показателей, в частности цетановое число, кинематическую вязкость, температуру вспышки в закрытом тигле, массовую долю серы и т.д. Для России одними из важнейших эксплуатационных характеристик горюче-смазочных материалов являются низкотемпературные свойства. Это связано с тем, что большая часть территорий нашей страны находится в зонах умеренного, арктического и субарктического климата, где в зимний период среднесуточные температуры могут составлять до минус 40 °C, а максимально достигнутые температуры опускаются вплоть до минус 68 °C (например, в г. Верхоянске, Якутия).

Сырьевыми ресурсами для производства товарных дизельных топлив на нефтеперерабатывающих предприятиях Российской Федерации являются прямогонные дизельные топлива, а также дизельные топлива ряда вторичных процессов, типичные показатели качества которых в сравнении со стандартными требованиями ГОСТ 32511-2013 представлены в табл. 1. В соответствии с низкотемпературным свойством, таким как предельная температура фильтруемости (ПТФ), дизельные топлива подразделяют на сорта и классы, каждый из которых можно использовать только в определенных климатических условиях (табл. 2). Самыми востребованными дизельными топливами на рынке, производящимися в России в профиците, являются топлива Евро летнее сорта С и зимнее класса 2, а наиболее дефицитным – дизельное топливо арктическое класса 4, выработка которого на нефтеперерабатывающих заводах Российской Федерации не превышает 1,0–2,5% от общего объема дизельного топлива² [1].

¹ГОСТ 32511-2013. Топливо дизельное ЕВРО. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2014. 20 с.

²Карташев Ю. Катализатор для Севера // Коммерсантъ. 2021. 15 декабря. Режим доступа: <https://www.kommersant.ru/doc/5128918> (дата обращения: 10.09.2025).

Таблица 1. Показатели качества дизельного топлива нефтеперерабатывающего производства АО «Ангарская нефтехимическая компания»

Table 1. Diesel fuel quality indicators of the Angarsk Petrochemical Company Oil Refinery

Наименование показателя	Вид дизельного топлива			ГОСТ 32511-2013	
	Прямогонное (ЭЛОУ+АВТ-6)	Прямогонное (ГК-3)	Вторичное (21-10 ЗМ)	Сорт С	Класс 2
Плотность при 15 °С, кг/м ³	852	855	841	820,0–845,0	800,0–840,0
Полициклические ароматические углеводороды, % масс.	7,1	-	9,4	Не более 8,0	Не более 8,0
Содержание серы, мг/кг	2716	2816	7444	Не более 10,0	Не более 10,0
Температура вспышки в закрытом тигле, °С	74	79	63	Выше 55	Выше 40
Кинематическая вязкость при 40 °С, мм ² /с	3,18	3,62	1,69	2,0–4,5	800,0–840,0
Фракционный состав, % об.:					
– при температуре 250 °С	30	26	62	Менее 65	Не более 10
– при температуре 350 °С	100	97	100	Не менее 85	Не менее 95
Температура перегонки 95 % об., °С	341	350	305	Не выше 360	-
Смазывающая способность по скорректированному диаметру пятна износа при 60 °С, мкм	351	330	302	Не более 460	Не более 460
ПТФ, °С	-14	-11	-30	Не выше -5	Не выше -32

Таблица 2. Требования к летнему (сорт А, В, С, D), межсезонному (Е, F), зимнему (классы 0, 1, 2, 3) и арктическому (класс 4) дизельному топливам

Table 2. Requirements for summer (grades A, B, C, D), interseasonal (E, F), winter (classes 0, 1, 2, 3) and arctic (class 4) diesel fuels

Наименование показателя	Сорт дизельного топлива					
	A	B	C	D	E	F
ПТФ, °С, не выше	5	0	-5	-10	-15	-20
	Класс дизельного топлива					
	0	1	2	3	4	
ПТФ, °С, не выше	-20	-26	-32	-38	-44	
T _п , °С, не выше	-10	-16	-22	-28	-34	

Необходимые экологические характеристики (массовая доля полициклических ароматических углеводородов и серы) обеспечивают при гидроочистке смесей прямогонного и вторичного дизельного топлива. При этом необходимо отметить, что при минимизации содержания сернистых соединений в дизельном топливе резко ухудшается показатель смазывающей способности (по скорректированному диаметру пятна износа при 60 °С). Для обеспечения этого показателя требуется ввод в дизельное топливо специальной противоизносной присадки.

Ряд эксплуатационных характеристик, таких как плотность, температура вспышки, фракционный состав и вязкость, обеспечивают за счет изменения состава смесового сырья, а также оптимизации работы блока стабилизации установок гидроочистки дизельного топлива.

Значительно сложнее обстоит дело с обеспечением требуемых низкотемпературных характеристик топлива. Низкотемпературные характеристики дизельных топлив определяются в первую очередь их химическим составом и зависящим от него фракционным составом. Для при-

ведения этих показателей к нормативным значениям применяют различные методы.

Самым простым решением этой задачи является «облегчение» фракционного состава дизельного топлива, то есть отбор более низкокипящих углеводородов. При стандартном фракционном составе (180–360 °С) температура застывания (T_з) дизельного топлива составляет порядка минус 11–14 °С. При снижении температуры конца кипения дизельной фракции до 300–320 °С T_з дизельного топлива снижается до минус 35 °С, а при отборе фракции с температурой конца кипения 280 °С T_з топлива составляет минус 45 °С. При этом снижение температуры конца кипения дизельного топлива приводит к уменьшению объема этой фракции с 42 до 22,4% масс. в пересчете на исходную нефть [2]. Это неизбежно влечет за собой нежелательное изменение соотношения нефтепродуктов в корзине нефтеперерабатывающего завода, а также снижение экономической эффективности деятельности данного завода.

Известно также, что низкотемпературные свойства дизельных топлив существенно ухудшаются при повы-

шении содержания в них высших парафинов нормального строения: чем больше n -парафинов, тем выше T_3 . В связи с этим n -парафины обычно удаляют посредством процессов депарафинизации (каталитическая, селективная и др.) [3]. Наиболее активными катализаторами депарафинизации являются синтетические высокомолекулярные цеолиты, модифицированные редкоземельными элементами [4]. В процессе каталитической депарафинизации нефтяных фракций происходит крекинг n -парафинов, в результате чего образуются легкие предельные углеводороды, преимущественно изостроения, характеризующиеся более низкими значениями T_3 и ПТФ. Недостатком данной технологии также является снижение выхода целевой фракции дизельного топлива за счет образования легких газообразных углеводородов и углеводородов бензиновой группы.

Более предпочтительной является технология каталитической изо-депарафинизации [5], так как она позволяет избежать тех трудностей, о которых сказано выше: при минимальном крекинге углеводородов и высоком выходе дизельного топлива она позволяет получить из длинноцепочечных n -парафинов изомерные молекулы, а за счет этого и необходимые низкотемпературные свойства дизельного топлива. Однако это процесс влечет за собой высокие затраты из-за использования дорогостоящих катализаторов, содержащих драгметаллы, и специфического сложного технологического оборудования (реакторы, компрессоры, печи), что увеличивает себестоимость продукции.

Оптимальным и потому широко распространенным методом корректировки низкотемпературных показателей дизельного топлива является использование депрессорных и депрессорно-диспергирующих присадок [6, 7]. Они могут быть произведены на основе как низкомолекулярных, так и высокомолекулярных соединений. Наибольшее распространение в настоящее время получили присадки полимерного типа.

Известно большое количество высокомолекулярных соединений, обладающих депрессорной активностью по отношению к нефтепродуктам, в том числе и к дизельному топливу [8, 9], при этом их значительная часть представляет собой полимеры на основе этилена, его гомологов, винилацетата, эфиров акриловой, метакриловой, фумаровой кислот, малеинового ангидрида и т.д. [10–14].

Основная часть промышленно производимых депрессоров для дизельного топлива – это сополимеры этилена с винилацетатом [15, 16]. К данной группе относят, например, такие коммерческие присадки, как Dodiflow 4971, 5416, 5817, 7118, Keroflux 3501, 5696 и др.

Наибольшая доля потребления депрессорно-диспергирующих и депрессорных присадок приходится на нефтеперерабатывающие заводы ПАО «НК «Роснефть»», ПАО «Газпром» и ПАО «Лукойл». Суммарный рынок данных присадок к топливам (включая вакуумный газойль и мазут) в России достиг в 2021 г. порядка 23 тыс. т или около 18 млрд руб. ежегодно [17].

Таким образом, разработка новых типов отечественных депрессорных присадок к дизельному топливу является одной из ключевых и актуальнейших задач, стоящих перед нефтеперерабатывающим и нефтехимическим комплексами.

Чаще всего применяемые на нефтеперерабатывающих заводах присадки, синтезируемые на основе сополимеров этилена и винилацетата, требуют сложной технологии производства: они получаются посредством радикальной сополимеризации этилена с винилацетатом при высоком давлении (от 40 до 200 МПа) и температурах порядка 180–250 °С [11, 18].

Имеется ряд научных публикаций, рассматривающих в качестве депрессорной присадки к топливам крупнотоннажный отход производства полиэтилена высокого давления – низкомолекулярный полиэтилен. Так, авторами работы [19] доказана эффективность его действия на T_3 маловязкого судового топлива с содержанием утяжеленных среднестиллятных фракций. Также показано, что эффективность действия депрессорных присадок на основе сополимеров этилена и винилацетата и низкомолекулярного полиэтилена возрастает при включении в присадку ароматических углеводородов [20].

Цель представленного исследования заключалась в проведении синтеза и изучении депрессорных свойств присадок к дизельному топливу, полученных на основе низкомолекулярного полиэтилена и стирола.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве исходных компонентов для синтеза присадок использовали товарные и побочные продукты АО «Ангарский завод полимеров»:

– низкомолекулярный полиэтилен с T_n 15–45 °С;

– стирол-ректификат с чистотой 99,8% масс. ($T_{кип} = 145$ °С, $\rho = 0,909$ г/см³).

Низкомолекулярный полиэтилен представляет собой крупнотоннажный отход производства полиэтилена низкой плотности, который образуется в условиях радикально инициирования. По данным спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) ¹³C, молекула низкомолекулярного полиэтилена включает в среднем от 15 до 18 этиленовых остатков и характеризуется молекулярной массой порядка 450–530 Да.

Радикальную сополимеризацию стирола и низкомолекулярного полиэтилена проводили в среде ароматического растворителя (толуола или бензола) при температуре 80 °С в течение 2 ч. В качестве инициатора использовали перекись бензоила в количестве 1% от массы мономеров. По окончании сополимеризации реакционную массу разбавляли изопропанолом, выпавший осадок полимера отфильтровывали на лабораторных фильтрах Шотта S3. Сополимеры очищали переосаждением из изопропанола. Переосажденные сополимеры высушивали в вакуумной сушильном шкафу до постоянной массы.

Факт протекания сополимеризации подтверждали данными турбидиметрического титрования. Турбидиметрический анализ проводили при температуре 25 °С с использованием системы толуол – изопропанол. Начальная концентрация растворов сополимеров составляла 0,96 г/100 мл. Оптическую плотность растворов измеряли на длине волны 725 нм с помощью спектрофотометра ПЭ-5400 В (ООО «Экротех», Россия).

Состав сополимеров и относительное содержание в них различных структурных звеньев оценивали посредством данных, полученных методами элементного анализа, инфракрасной (ИК) спектроскопии и спектроскопии ЯМР ¹³C.

Элементный анализ сополимеров проводили на газоанализаторе Thermo Finnigan Flash EA 1112 Series (Thermo Finnigan, Италия). ИК-спектры сополимеров регистрировали на спектрофотометрах Varian 3100 FT-IR (Varian, США), Specord IR-75 (Carl Zeiss, Германия) и Bruker IFS-25 (Bruker, Германия) в таблетках KBr и в растворе. Также ИК-спектры получали на спектрометре ФСМ 2201 (АО «Лабораторное оборудование и приборы», Россия) с преобразованием Фурье, спектры снимали в растворе толуола.

Для регистрации спектров ЯМР ^{13}C сополимеров был использован спектрометр VXR-500S (Varian, США) с рабочей частотой 125,7 МГц с шумовой развязкой от протонов и шириной спектра 30 Гц после 5000 проходов. Шумовая развязка выключалась во время релаксационной задержки, которая составляла 2,5 с, ширина импульса – 90°, параметр уширения линий при экспоненциальном умножении – 10 Гц. Для регистрации спектра ЯМР ^{13}C использовали раствор сополимера в CDCl_3 с трис-ацетилацетонатом хрома в качестве релаксанта (0,02 моль/л). Спектры регистрировали при температуре 25 °С. Количественные расчеты по спектрам ЯМР ^{13}C проводили согласно методике, описанной в работе [21].

При выполнении работы использовали дизельные топлива, полученные на промышленной площадке АО «Ангарская нефтехимическая компания». Низкотемпературные свойства дизельных топлив с разработанными присадками оценивали по двум показателям: T_z и ПТФ.

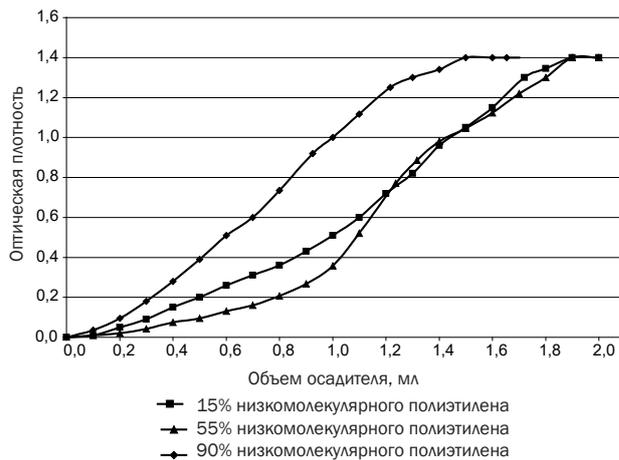
Определение T_z и ПТФ топлив проводили по методикам, описанным в источниках^{3,4}. Относительную вязкость растворов сополимеров определяли по стандартной методике [22]. Испытания проводились с помощью вискозиметра Уббелодде при 20 °С для 1%-х растворов сополимеров, растворенных в толуоле.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С целью получения депрессорной присадки к дизельному топливу синтезированы сополимеры стирола и низкомолекулярного полиэтилена с различным содержанием звеньев стирола в макромолекулярной цепи. В зависимости от состава мономерной смеси сополимеры являются твердыми или гелеобразными веществами белого цвета, хорошо растворимыми в индивидуальных или смесевых углеводородных растворителях: гексане, гептане, бензоле, толуоле, дизельной фракции.

Факт протекания сополимеризации подтверждали данными турбидиметрического титрования. С учетом склонности стирола к гомополимеризации и проведения процесса в присутствии радикального инициатора нельзя исключать возможность получения гомополимера стирола (полистирола) в ходе процесса. Мономодальный вид большинства кривых турбидиметрического титрования (рисунком) свидетельствует о получении в исследованных системах сополимеров, а не смеси двух гомополимеров.

Полученные продукты идентифицировали по данным элементного анализа (содержание С, Н), строение сопо-



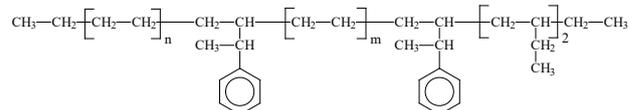
Кривые турбидиметрического титрования сополимеров стирола и низкомолекулярного полиэтилена

Turbidimetric titration curves of styrene and low molecular weight polyethylene copolymers

лимеров устанавливали на основании данных ИК-спектроскопии и спектроскопии ЯМР ^{13}C . В ИК-спектрах наблюдаются полосы поглощения в области 2940–2915 и 2870–2845 cm^{-1} , соответствующие асимметричным и симметричным валентным колебаниям группы $-\text{CH}_2$. Также в спектре имеются колебания в областях, характерных для ароматического кольца: полосы поглощения в областях 3030 и 1600–1400 cm^{-1} могут быть отнесены к валентным колебаниям групп CH в ароматическом кольце. Отсутствие полос поглощения в области 1645–1640 cm^{-1} свидетельствует о протекании реакции полимеризации по винильной группе в стироле и двойным связям в низкомолекулярном полиэтилене.

Отнесение сигналов в спектрах ЯМР ^{13}C сополимеров стирол – низкомолекулярный полиэтилен позволило охарактеризовать состав сополимеров (табл. 3) и рассчитать средние значения их молекулярных масс, которые составили в среднем до 635–740 Да.

Таким образом, в результате сополимеризации стирола с низкомолекулярным полиэтиленом впервые синтезированы привитые бинарные сополимеры, содержащие звенья стирола преимущественно в боковых цепях. Исходя из анализа спектроскопических данных, структуру сополимеров стирола и низкомолекулярного полиэтилена можно представить следующей формулой:



где $(m + n) = 15-18$.

Полученные результаты соотносятся с данными элементного анализа (массовая доля углерода), которые использованы для расчета состава сополимеров (табл. 4).

³ГОСТ 22254-92 Топливо дизельное. Метод определения предельной температуры фильтруемости на холодном фильтре. М.: Комитет по стандартизации и метрологии СССР, 1992. 16 с.

⁴ГОСТ 5066-2018. Топлива моторные. Методы определения температур помутнения, начала кристаллизации и замерзания. М.: Стандартинформ, 2019. 11 с.

Таблица 3. Интегральная интенсивность сигналов в спектре (*I*) и молярная доля атомов углерода (*q*) в макромолекуле сополимера
Table 3. Integral intensity of signals in the spectrum (*I*) and molar fraction of carbon atoms (*q*) in the copolymer macromolecule

Структурный фрагмент	<i>I</i>	<i>q</i>	Диапазон химических сдвигов ¹³ C, ppm; отнесение сигналов
C _{ар}	19,63	0,030	148–140; четвертичные атомы углерода ароматических колец (C ₁)
CH _{ар}	98,13	0,148	130–126; атомы углерода ароматических колец (C ₂ , C ₃ , C ₄ , C ₅ , C ₆)
CH	19,32	0,029	48–42; атомы углерода метиновых групп, находящихся в α-положении к ароматическому кольцу стирола (C ₇)
CH ₂	134,41	0,202	42–33; атомы углерода метиленовых групп, находящихся в β-положении к ароматическому кольцу стирола (C ₈) (метиленовые группы этилена и стирола)
CH ₂	242,66	0,451	33–25; атомы углерода полиметиленовых фрагментов
CH ₃ -изо	99,53	0,065	25–17; атомы углерода метильных групп, связанных с метиновыми группами
CH ₃ -т	49,63	0,075	17–7; атомы углерода терминальных метильных групп, связанных с метиленовыми группами

Таблица 4. Общие закономерности сополимеризации низкомолекулярного полиэтилена со стиролом

Table 4. General patterns of copolymerization of low molecular weight polyethylene with styrene

Номер образца	Состав исходной смеси, % мол.		Содержание углерода, % масс.	Состав сополимера*, % мол.		Выход, %	Относительная вязкость
	Низкомолекулярный полиэтилен	Стирол		Низкомолекулярный полиэтилен	Стирол		
Сополимеризация в растворе толуола							
1	95	5	87,13	92,70*/ 92,86**	7,30/ 7,14	54,7	1,04
2	75	25	87,16	92,70*/ 92,75**	7,45/ 7,25	48,2	1,07
3	50	50	87,52	90,29*	9,71	24,4	1,09
4	25	75	87,65	89,45*	10,55	17,0	1,12
5	5	95	87,80	88,40*	11,60	2,17	1,15
Сополимеризация в растворе бензола							
1-1	90	10	87,33	91,50	8,50	55,75	1,21
1-2	55	45	87,69	89,15	10,85	24,00	1,17
1-3	45	55	87,96	87,29	12,71	36,00	1,08
1-4	35	65	88,32	84,45	15,55	33,50	1,09
1-5	15	85	89,35	74,40	25,60	36,00	1,12

Примечание. * – по данным элементного анализа; ** – по данным спектроскопии ЯМР ¹³C.

Содержание стирола в полученных сополимерах возрастает с повышением его доли в исходной мономерной смеси, при этом при проведении сополимеризации в бензоле содержание стирола выше, чем в толуоле. Выход сополимеров (см. табл. 4), полученных в растворе толуола, увеличивается с повышением содержания в исходной смеси низкомолекулярного полиэтилена, что говорит о меньшей реакционной способности стирола.

Сополимеры характеризуются низкими значениями относительной вязкости (см. табл. 4) и, следовательно, невысокими значениями молекулярной массы, что подтверждается данными спектроскопии ЯМР ^{13}C . Как показывает анализ литературных данных [23], депрессорные свойства традиционных полимерных присадок зависят в числе прочего от значений их молекулярных масс: присадки с наименьшей молекулярной массой обладают максимальным депрессорным действием.

Для оценки степени воздействия сополимеров стирол – низкомолекулярный полиэтилен на T_3 , ПТФ и температуру помутнения (T_n) образцов прямогонного летнего и зимнего дизельного топлива был проведен ряд испытаний. Сополимеры с различным соотношением

стирола и низкомолекулярного полиэтилена в макромолекуле растворяли в прямогонных дизельных топливах при комнатной температуре (табл. 5). Концентрацию сополимеров в дизельном топливе варьировали от 0,05 до 1,00% от массы топлива (табл. 6), что соответствует стандартной концентрации коммерческих присадок к дизельному топливу, используемых на нефтеперерабатывающих заводах. Результаты оценки низкотемпературных свойств дизельного топлива с сополимерами стирол – низкомолекулярный полиэтилен, полученными в толуоле, приведены в табл. 5.

Анализ полученных данных позволяет говорить об улучшении низкотемпературных характеристик дизельного топлива с присадкой: при ее использовании в концентрации 0,5% масс. на дизельном топливе зафиксировано снижение T_3 летнего дизельного топлива на 30,5 °С (до минус 33,7 °С). При этом ПТФ дизельного топлива составила минус 15,3 °С, то есть снизилась на 20,7 °С.

Для образца зимнего дизельного топлива максимальная депрессия T_3 составила 17,6 °С, которая соответствовала T_3 дизельного топлива минус 42,4 °С. Максимальная депрессия ПТФ составили 17,4 °С.

Таким образом, можно сделать вывод, что присадка на основе сополимеров стирол – низкомолекулярный

Таблица 5. Низкотемпературные характеристики летнего и зимнего дизельного топлива в присутствии сополимеров стирола и низкомолекулярного полиэтилена (концентрация присадки – 0,5% масс.)

Table 5. Low-temperature characteristics of summer and winter diesel fuel in the presence of copolymers of styrene and low molecular weight polyethylene (additive concentration 0.5% by weight)

Наименование образца	ПТФ, °С	ΔПТФ, °С	T_3 , °С	Δ T_3 , °С	T_n , °С	Δ T_n , °С
Дизельное топливо летнее	5,4	-	-3,2	-	8,6	-
Низкомолекулярный полиэтилен 95% масс.	-0,1	5,5	-11,3	8,1	8,0	0,6
Низкомолекулярный полиэтилен 75% масс.	-12,9	18,3	-29,7	26,5	7,0	1,6
Низкомолекулярный полиэтилен 50% масс.	-15,3	20,7	-32,5	29,3	8,2	1,2
Низкомолекулярный полиэтилен 25% масс.	-15,3	20,7	-33,7	30,5	7,5	1,1
Дизельное топливо зимнее	-14,4	-	-24,8	-	-8,7	-
Низкомолекулярный полиэтилен 95% масс.	-24,8	10,4	-35,2	10,4	-10,0	1,3
Низкомолекулярный полиэтилен 75% масс.	-26,3	11,9	-39,4	14,6	-10,5	1,8
Низкомолекулярный полиэтилен 50% масс.	-28,1	13,7	-42,4	17,6	-10,5	1,8
Низкомолекулярный полиэтилен 25% масс.	-31,8	17,4	-41,3	16,5	-11,0	2,3

Таблица 6. Низкотемпературные характеристики летнего дизельного топлива в присутствии сополимеров стирола и низкомолекулярного полиэтилена (содержание последнего – 25% масс.)

Table 6. Low-temperature characteristics of summer diesel fuel in the presence of copolymers of styrene and low molecular weight polyethylene (NMPE content 25% by weight)

Наименование образца	ПТФ, °С	ΔПТФ, °С	T_3 , °С	Δ T_3 , °С	T_n , °С	Δ T_n , °С
Дизельное топливо летнее	6,1	-	-3,4	-	7,8	-
0,1% масс.	2,1	4,0	-10,4	7,0	7,2	0,6
0,5% масс.	-11,0	15,1	-30,0	26,7	7,7	0,1
1,0% масс.	-11,3	15,4	-29,0	25,6	6,4	1,4

полиэтилен обладает приемистостью как к летним, так и к зимним дизельным топливам. Депрессорный эффект сополимеров как для зимних, так и для летних дизельных топлив зависит от их строения:

– для летних топлив максимальная депрессия достигается при использовании сополимера с содержанием низкомолекулярного полиэтилена 25% масс;

– для зимних дизельных топлив максимальным депрессорным эффектом обладают сополимеры с содержанием низкомолекулярного полиэтилена 50% масс.

Значения T_n для базовых летних и зимних дизельных топлив в присутствии сополимеров стирола и низкомолекулярного полиэтилена практически не изменяются.

Проведен ряд экспериментов с целью подбора оптимальной концентрации присадки. Были изучены низкотемпературные свойства образцов дизельного топлива с содержанием низкомолекулярного полиэтилена в сополимере, составляющем 25% масс. (см. табл. 6), который показал лучшие результаты при испытаниях летних и зимних дизельных топлив по изменению T_3 , ПТФ и T_n (см. табл. 5.)

Экспериментальные данные показывают, что присадка к дизельному топливу сополимера стирол – низкомолекулярный полиэтилен в количестве 0,1% масс. позволяет снизить ПТФ на 4 °С, а T_3 на 10,4 °С. Увеличение концентрации депрессора в дизельном топливе более 0,5% масс. нецелесообразно, поскольку приводит к обратному эффекту – увеличению T_3 .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенного исследования разработана новая депрессорная присадка для дизельного топлива на основе впервые полученных бинарных сополимеров низкомолекулярного полиэтилена со стиролом. Установлены основные закономерности протекания реакций радикальной сополимеризации в указанных системах в среде ароматических растворителей и доказано, что синтезированные продукты представляют собой привитые сополимеры, содержащие звенья стирола преимущественно в боковых цепях.

Произведена оценка низкотемпературных показателей летних и зимних дизельных топлив с новыми депрессорными присадками. Установлено, что сополимеры стирола с низкомолекулярным полиэтиленом, добавленные в дизельное топливо в количестве от 0,1 до 1,0% масс., позволяют снизить их T_3 до минус 42 °С и обеспечить депрессию ПТФ до 21 °С.

Использование сополимеров стирола в качестве депрессорной присадки к летним и зимним прямогонным дизельным топливам в количестве 0,5% масс. существенно снижает T_3 топлива, что позволит без изменения фракционного состава дизельного топлива на базе летнего дизельного топлива сорта А получать межсезонные дизельные топлива сорта D и E, а на базе зимнего дизельного топлива сорта D возможно производство зимних дизельных топлив класса 0, 1, 2 (при подборе базового дизельного топлива с необходимой T_n) с более высокой добавленной стоимостью.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Синюта В.Р., Орловская Н.Ф. Производство арктических дизельных топлив // Нефтепереработка и нефтехимия. 2017. № 9. С. 16–18. EDN: ZTMVLV.

2. Митусова Т.Н., Хавкин В.А., Гуляева Л.А., Калинина М.В., Виноградова Н.Я. Современное состояние производства низкозастывающих дизельных топлив на заводах России // Мир нефтепродуктов. Вестник нефтяных компаний. 2012. № 2. С. 6–8. EDN: OYQKPB.

3. Камешков А.В., Гайле А.А. Получение дизельных топлив с улучшенными низкотемпературными свойствами (обзор) // Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета). 2015. № 29. С. 49–60. EDN: UDOGPB.

4. Боженков Г.В., Медведев Д.В., Рудякова Е.В., Губанов Н.Д. Каталитическая депарафинизация средних дистиллятов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. № 2. С. 349–359. DOI: 10.21285/2227-2925-2020-10-2-349-359. EDN: VQHOWV.

5. Кондрашев Д.О., Клейменов А.В., Гуляева Л.А., Хавкин В.А., Красильникова Л.А., Груданова А.И. [и др.]. Исследование эффективности процесса изодепарафинизации дизельного топлива с использованием цеолитсодержащего никель-молибденового катализатора // Катализ в промышленности. 2016. № 6. С. 14–22. EDN: XQXGIX.

6. Капустин В.М. Нефтяные и альтернативные топлива с присадками и добавками. М.: КолосС, 2008. 230 с.

7. Тертерян Р.А. Депрессорные присадки к нефтям, топливам и маслам. М.: Химия, 1990. 236 с.

8. Кулиев А.М. Химия и технология присадок к маслам и топливам. Л.: Химия, 1985. 312 с.

9. Данилов А.М. Отечественные присадки к дизельным

топливам // Мир нефтепродуктов. Вестник нефтяных компаний. 2010. № 1. С. 9–13. EDN: KZVXEV.

10. Пат. № 2009172, Российская Федерация, С10L1/04, С10L1/18. Нефтяное топливо / Т.Ф. Овчинникова, В.Н. Лозинский, И.Я. Пережигина, Т.Н. Митусова, П.С. Дейнеко, Ф.В. Октябрьский [и др.]. Заявл. 10.02.1992; опубл. 15.03.1994.

11. Тертерян Р.А., Иванов В.И., Лившиц С.Д., Краснянская Г.Г. Депрессорная присадка к мазутам // Химия и технология топлив и масел. 1981. № 11. С. 42–44.

12. Иванов В.И., Храпов В.С., Душечкин А.П., Шапкина Л.Н. Соплимеры этилена с алкилметакрилатами как депрессорные присадки к дизельному топливу // Химия и технология топлив и масел. 1981. № 11. С. 41–42.

13. Létoffé J.M., Claudy P., Vassilakis D., Damin B. Antagonism between cloud point and cold filter plugging point depressants in a diesel fuel // Fuel. 1995. Vol. 74, no. 12. P. 1830–1833. DOI: 10.1016/0016-2361(95)80015-A.

14. Xu G., Xue Y., Zhao Z., Lian X., Lin H., Han S. Influence of poly (methacrylate-co-maleic anhydride) pour point depressant with various pendants on low-temperature flowability of diesel fuel // Fuel. 2018. Vol. 216. P. 898–907. DOI: 10.1016/j.fuel.2017.06.126.

15. Башкатова С.Т. Присадки к дизельным топливам. М.: Химия, 1994. 250 с.

16. 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. № 4. С. 612–619. DOI: 10.21285/2227-2925-2022-12-4-612-619. EDN: YBJNUE.

17. Савеленко В.Д., Ершов М.А., Махова У.А., Махмудова А.Э., Подлеснова, Низовцев А.В. [и др.]. Анализ

рынка топливных присадок в России и перспективы импортозамещения // Нефтегазохимия. 2023. N 2. С. 12–19. DOI: 10.24412/2310-8266-2023-2-12-19. EDN: ISUWWF.

18. Иванов В.И., Краснянская Г.Г., Октябрьский В.Ф., Ермакова Н.В. Получение депрессорной присадки к дизельному топливу сополимеризацией этилена с винилацетатом // Химия и технология топлив и масел. 1984. N 10. С. 12–14.

19. Артемьева Ж.Н., Дьячкова С.Г., Кузора И.Е., Забродина С.В. Утилизация отходов нефтеперерабатывающих и нефтехимических производств – новый экологичный подход к товарным продуктам // Экология и промышленность России. 2020. Т. 24. N 12. С. 23–27. DOI: 10.18412/1816-0395-2020-12-23-27. EDN: UICMKV.

20. Пат. № 2137813, Российская Федерация, С10L1/18. Депрессорная присадка для нефти и нефте-

продуктов / Б.Г. Соколов, А.В. де Векки, Ю.П. Кобзев, Н.А. Митин, А.И. Терехов, В.Ф. Большаков [и др.]. Заявл. 06.01.1998; опубл. 20.09.1999.

21. Калабин Г.А., Каницкая Л.В., Кушнарев Д.Ф. Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки. М.: Химия, 2000. 407 с.

22. Берлин А.А. Об определении характеристической вязкости растворов полимеров // Высокомолекулярные соединения. 1966. Т. 8. N 8. С. 1336–1341.

23. Ivanova L.V., Makarov I.A., Primerova O.V., Burov E.A., Sorokina A.S., Koshelev V.N. Comparative study of the depressant-dispersant additives efficiency in diesel fuel // Известия высших учебных заведений. Серия Химия и химическая технология. 2022. Т. 65. N 3. С. 60–66. DOI: 10.6060/ivkkt.20226503.6446. EDN: ORMIIF.

REFERENCES

1. Sinyuta V.R., Orlovskaya N.F. Production of arctic diesel fuels. *Neftepererabotka i neftekhimiya*. 2017;9:16-18. (In Russian). EDN: ZTMVLV.

2. Mitusova T.N., Khavkin V.A., Gulyaeva L.A., Kalinina M.V., Vinogradova N.Ya. Low-freezing diesel fuels roduction. *Mir nefteproduktov. Vestnik neftyanykh kompanii*. 2012;2:6-8. (In Russian). EDN: OYPKPB.

3. Kameshkov A.V., Gaile A.A. Production of diesel fuels with improved low temperature properties (review). *Bulletin of the Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University)*. 2015;29:49-60. (In Russian). EDN: UDOGPB.

4. Bozhenkov G.V., Medvedev D.V., Rudyakova E.V., Gubanov N.D. Catalytic deparaffinization of middle distillates. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020;10(2):349-359. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2020-10-2-349-359. EDN: VQH0WV.

5. Kondrashev D.O., Kleimenov A.V., Gulyaeva L.A., Khavkin V.A., Krasil'nikova L.A., Grudanov A.I., et al. Studies of the efficiency of diesel isodeparaffinization over a zeolite-containing nickel-molybdenum catalyst. *Catalysis in Industry*. 2016;6:14-22. (In Russian). EDN: XQXGIX.

6. Kapustin V.M. *Oil and alternative fuels with additives*. Moscow: KolosS; 2008, 232 p. (In Russian).

7. Terteryan R.A. *Depressant additives for oils, fuels, and lubricants*. Moscow: Khimiya; 1990, 238 p. (In Russian).

8. Kuliyeu A.M. *Chemistry and technology of additives for oils and fuels*. Leningrad: Khimiya; 1985, 312 p. (In Russian).

9. Danilov A.M. Domestic additives to diesel fuels. *Mir nefteproduktov. Vestnik neftyanykh kompanii*. 2010;1:9-13. (In Russian). EDN: KZVXEY.

10. Ovchinnikova T.F., Lozinskij V.N., Perezhigina I.Ja., Mitusova T.N., Dajenko P.S., Oktjabr'skij F.V., et al. *Petroleum Fuel*. Patent RF, no. 2009172; 1994. (In Russian).

11. Terteryan R.A., Ivanov V.I., Livshits S.D., Krasnyanskaya G.G. Depressant additive for fuel oils. *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 1981;11:42-44. (In Russian).

12. Ivanov V.I., Kharapov V.S., Dushechkin A.P., Shapkina L.N. Ethylene copolymers with alkyl methacrylates as depressant additives for diesel fuel. *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 1981;11:41-42. (In Russian).

13. Létoffé J.M., Claudy P., Vassilakis D., Damin B. Antagonism between cloud point and cold filter plugging point depressants in a diesel fuel. *Fuel*. 1995;74(12):1830-1833. DOI: 10.1016/0016-2361(95)80015-A.

14. Xu G., Xue Y., Zhao Z., Lian X., Lin H., Han S. Influence of poly (methacrylate-co-maleic anhydride) pour point depressant with various pendants on low-temperature flowability of diesel fuel. *Fuel*. 2018;216:898-907. DOI: 10.1016/j.fuel.2017.06.126.

15. Bashkatova S.T. *Additives for diesel fuels*. Moscow: Khimiya; 1994, p. 256. (In Russian).

16. Yakovlev N.S., Agaev S.G. Influence of physicochemical properties of depressor additives on their performance in diesel fuels. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):612-619. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2022-12-4-612-619. EDN: YBJNUE.

17. Savelenko V.D., Ershov M.A., Makhova U.A., Makhmudova A.E., Podlesnova E.V., Nizovtsev A.V., et al. Analysis of the fuel additives market in russia and prospects for import substitution. *Oil & Gas Chemistry*. 2023;2:12-19. (In Russian). DOI: 10.24412/2310-8266-2023-2-12-19. EDN: ISUWWF.

18. Ivanov V.I., Krasnyanskaya G.G., Oktyabr'sky V.F., Ermakova N.V. Production of a depressant additive for diesel fuel by copolymerization of ethylene with vinyl acetate. *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*. 1984;10:12-14. (In Russian).

19. Artemyeva Zh.N., D'yachkova S.G., Kuzora I.E., Zabrodina S.V. Recycling of waste from oil refining and petrochemical industries - a new, eco-friendly approach to commercial products. *Ecology and Industry of Russia*. 2020;24(12):23-27. (In Russian). DOI: 10.18412/1816-0395-2020-12-23-27. EDN: UICMKV.

20. Sokolov B.G., de Vekki A.V., Kobzev J.P., Mitin N.A., Terekhov A.I., Bol'shakov V.F., et al. *Depressant for petroleum and petroleum products*. Patent RF, no. 2137813; 1999. (In Russian).

21. Kalabin G.A., Kanitskaya L.V., Kushnarev D.F. *Quantitative NMR spectroscopy of natural organic raw materials and their processing products*. Moscow: Khimiya; 2000, 407 p. (In Russian).

22. Berlin A.A. On the determination of intrinsic viscosity of polymer solutions. *Vysokomolekulyarnye soedineniya*. 1966;8(8):1336-1341. (In Russian).

23. Ivanova L.V., Makarov I.A., Primerova O.V., Burov E.A., Sorokina A.S., Koshelev V.N. Comparative study of the depressant-dispersant additives efficiency in diesel fuel. *ChemChemTech*. 2022;65(3):60-66. DOI: 10.6060/ivkkt.20226503.6446. EDN: ORMIIF.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Гоненко Николай Павлович,
аспирант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
✉ kolya.gonenko@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0006-1548-429X>

Раскулова Татьяна Валентиновна,
д.х.н., доцент, заведующий кафедрой,
Ангарский государственный
технический университет,
665835 г. Ангарск, ул. Чайковского, 60,
Российская Федерация,
raskulova@list.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2367-8204>

Каницкая Людмила Васильевна,
д.х.н., профессор, профессор,
Байкальский государственный университет,
664003, г. Иркутск, ул. Ленина, 11,
Российская Федерация,
kanlv@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3028-3668>

Кузора Игорь Евгеньевич,
к.т.н., доцент,
Ангарский государственный
технический университет,
665835 г. Ангарск, ул. Чайковского, 60,
Российская Федерация,
kuzoraie@anhk.rosneft.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7039-2017>

Коновалов Николай Петрович,
д.т.н., профессор, заведующий кафедрой,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
knp@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0001-6786-2711>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nikolai P. Gonenko,
Postgraduate Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
✉ kolya.gonenko@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0006-1548-429X>

Tatyana V. Raskulova,
Dr. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Head of the Department,
Angarsk State Technical University,
60, Tchaikovsky St., Angarsk, 665835,
Russian Federation,
raskulova@list.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2367-8204>

Lyudmila V. Kanitskaya,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Professor,
Baikal State University,
11, Lenin St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
kanlv@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3028-3668>

Igor E. Kuzora,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Angarsk State Technical University,
60, Tchaikovsky St., Angarsk, 665835,
Russian Federation,
kuzoraie@anhk.rosneft.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7039-2017>

Nikolai P. Konovalov,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Head of the Department,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
knp@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0001-6786-2711>

Вклад авторов

Н.П. Гоненко – проведение исследования, формальный анализ, визуализация, написание черновика рукописи.
Т.В. Раскулова – разработка концепции, разработка методологии, формальный анализ, проведение исследования, научное руководство, валидация результатов, редактирование рукописи.
Л.В. Каницкая – курирование данных, проведение исследования, валидация результатов, редактирование рукописи.
И.Е. Кузора – курирование данных, формальный анализ, предоставление ресурсов, валидация результатов, редактирование рукописи.
Н.П. Коновалов – курирование данных, валидация результатов, редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

*Поступила в редакцию 05.05.2025.
Одобрена после рецензирования 15.06.2025.
Принята к публикации 18.09.2025.*

Contribution of the authors

Nikolai P. Gonenko – investigation, formal analysis, visualization, writing – original draft.
Tatyana V. Raskulova – conceptualization, methodology, formal analysis, investigation, supervision, validation, editing.
Lyudmila V. Kanitskaya – data curation, investigation, validation, editing.
Igor E. Kuzora – data curation, formal analysis, resources, validation, editing.
Nikolai P. Konovalov – data curation, validation, editing.

Conflict of interest

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 05.05.2025.
Approved after reviewing 15.06.2025.
Accepted for publication 18.09.2025.*

Научная статья
УДК 544.723.21
EDN: ХУСНУМ
DOI: 10.21285/achb.989



Кинетика сорбции фосфатов сорбентом из золошлаковых отходов

Т.Г. Короткова✉, А.М. Заколюкина, С.А. Бушумов

Кубанский государственный технологический университет, Краснодар, Российская Федерация

Аннотация. Цель проведенного исследования заключалась в изучении кинетики сорбции фосфатов прокаленным сорбентом на основе золошлаковых отходов предприятия теплоэнергетики и апробации сорбента на открытом стоке в реку Кубань, содержащем ливневые и хозяйственно-бытовые сточные воды. Прокаленный сорбент получен высушиванием и прокаливанием при температуре 600 °С в течение 30 мин образцов золошлака Новочеркасской государственной районной электростанции. Приведены данные экспериментальных исследований статической сорбции по очистке от фосфатов модельных водных растворов и сточной воды. Исследована кинетика сорбции фосфатов из модельных растворов прокаленным сорбентом массой 1 г на 50 см³ раствора. Экспериментально определены оптимальные значения параметров сорбции: частота вращения перемешивающего устройства составляла 200 об/мин, рН был равен 7, продолжительность сорбции – от 10 до 120 мин. Исходная концентрация фосфатов в модельных растворах варьировалась от 2 до 300 мг/дм³. Наибольшая эффективность извлечения 97–98% получена для концентраций фосфатов в исходном растворе 10 и 20 мг/дм³. Экспериментальные данные обработаны по уравнениям кинетики псевдопервого порядка (Лагергрена) и псевдовторого порядка (Хо и Маккея). Наибольший коэффициент детерминации $R^2 = 0,999$ получен по модели псевдовторого порядка, что согласуется с данными зарубежных исследователей по извлечению фосфатов из водных растворов сорбционным способом. Получено хорошее качественное и количественное согласование экспериментальных и расчетных значений эффективности извлечения фосфатов из водного раствора.

Ключевые слова: фосфаты, эффективность извлечения, кинетика сорбции, золошлаковые отходы предприятий теплоэнергетики

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ-20.1/57 (грант Кубанского научного фонда, номер государственной регистрации 122101000007-2).

Для цитирования: Короткова Т.Г., Заколюкина А.М., Бушумов С.А. Кинетика сорбции фосфатов сорбентом из золошлаковых отходов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 423–432. DOI: 10.21285/achb.989. EDN: ХУСНУМ.

CHEMICAL TECHNOLOGY

Original article

Sorption kinetics of phosphates by a calcined sorbent from ash and slag waste

Tatyana G. Korotkova✉, Alina M. Zakolyukina, Svyatoslav A. Bushumov

Kuban State Technological University, Krasnodar, Russian Federation

Abstract. This study investigates the sorption kinetics of phosphates onto a calcined sorbent derived from ash and slag waste generated by thermal power enterprises. The performance of the sorbent was also tested on water from an open discharge into the Kuban River, which contained a mixture of stormwater and domestic wastewater. The

sorbent was prepared by drying and calcining ash and slag samples from the Novochoerkassk State District Power Plant at 600 °C for 30 minutes. This paper details experiments on the static sorption removal of phosphates from both model aqueous solutions and wastewater. In the kinetic studies using model solutions, a sorbent dose of 1 g per 50 cm³ of solution was used. The optimal sorption parameters were determined experimentally: an agitation speed of 200 rpm, a pH of 7, and a contact time ranging from 10 to 120 minutes, with initial phosphate concentrations ranging from 2 to 300 mg/L. A high removal efficiency of 97–98% was achieved at initial concentrations of 10 and 20 mg/L. The experimental data were analyzed using pseudo-first-order (Lagergren) and pseudo-second-order (Ho – McKay) kinetic models. The pseudo-second-order model provided the best fit, with a coefficient of determination R² of 0.999, which is consistent with literature on phosphate sorption from aqueous solutions. A strong agreement was observed between the experimental and calculated values for phosphate removal efficiency.

Key words: phosphates, removal efficiency, sorption kinetics, ash and slag waste from thermal power enterprises

Funding. The Kuban Science Foundation financially supported the research (scientific project MFI-20.1/57).

For citation: Korotkova T.G., Zakolyukina A.M., Bushumov S.A. Sorption kinetics of phosphates by a calcined sorbent from ash and slag waste. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):423-432. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.989. EDN: XYCNM.

ВВЕДЕНИЕ

Попадание фосфатов со сточной водой в водный объект приводит к повышению численности опасных бактерий, «цветению» водоема, снижению биоразнообразия флоры и фауны. Повышение фосфатов в воде является одной из причин эвтрофикации, негативное воздействие которой на окружающую среду заключается в повышении мутности водоемов и гибели экосистемы [1–3]. Поскольку основное водоснабжение поступает из поверхностных вод, то это может привести к серьезным последствиям для людей [4].

Для очистки сточных вод от фосфатов применяют различные методы: химический (химическое осаждение или реагентная дефосфотация) [5–7], биологический (биологическая дефосфотация) [8–10], физико-химические (мембранная фильтрация [11], ионный обмен [12], обратный осмос [13]), электрохимический метод коагуляции [14, 15], физическую сорбцию [1, 16–23] и комбинированные методы [7]. Рассмотрим суть данных методов и опубликованные ранее результаты исследований некоторых коллег в данной области.

Широкое применение получили реагентные методы. Коагулянты (квасцы и хлорид кальция) добавляли при перемешивании в раствор фосфатов. Перемешивание осуществляли в два этапа: в течение 1 мин на частоте вращения 200 об/мин и в течение 30 мин при 30 об/мин. После периода отстаивания отбирали пробы на анализ. При одной и той же дозировке квасцы показали результат по удалению фосфора, который был в 2 раза лучше по сравнению с результатом применения хлорида кальция [5]. Соединения кальция, алюминия и железа применены в ходе исследования [6] в качестве реагентов-осадителей. Использование карбоната кальция позволило снизить содержание фосфатов с 14310 до 144 мг/л при pH воды 7,79 и расходе реагента 23016 мг/л при дальнейшем осаждении до 3,5 мг/л с помощью соединений железа и алюминия.

Биологическая дефосфотация основана на внутриклеточном накоплении полифосфатов протеобактериями, которые в настоящее время до конца не изучены [10].

Мембранная фильтрация предназначена в основном для доочистки хорошо очищенных сточных вод с помощью керамических мембран, которые получают из оксида алюминия, оксида титана, оксида циркония и т.д. Авторы работы [11] для получения гибридной керамической

мембраны порошкообразный активированный уголь в количестве 10% масс. добавляли в порошкообразный оксид алюминия (Al₂O₃), что позволило повысить пористость и площадь пор мембраны на 90% по сравнению с мембраной из немодифицированного оксида алюминия. Экспериментальные исследования показали удаление фосфатов от 40 до 99% в широком диапазоне концентраций растворенного вещества.

Изучено удаление фосфатов ионообменной смолой Amberlite IRA-67. Смола наиболее эффективна в диапазоне pH от 2 до 7 с максимальной поглощающей способностью 120,63 мг/г. Кинетика сорбции хорошо описывается моделью псевдоторгового порядка. Выявлено, что процесс сорбции протекает с выделением теплоты [12].

Для очистки воды от фосфатов применили кассеты с низконапорной мембраной обратного осмоса Filmtec TW30-1812-50. Установлено, что концентрация фосфатов в пермеате не превышает 2,5 мг/дм³ при исходной концентрации фосфатов 20 мг/дм³ и степени отбора пермеата до 90% [13].

Очистка сточных вод от фосфатов методом электрокоагуляции проведена в ходе подготовки работы [15]. В прямоугольный резервуар из плексигласа помещали вертикально четыре пластинчатых электрода (два анода и два катода). В качестве катода использовались перфорированные листы нержавеющей стали, а в качестве анода – алюминиевые пластины. Для повышения проводимости раствора использовали электролит с дозой от 0,5 до 5 г NaCl на 1 дм³. Исходная концентрация фосфатов составляла от 10 до 150 мг/дм³, pH – от 3 до 10, плотность тока – от 1,13 до 4,54 мА/см², продолжительность электрокоагуляции – до 180 мин. Максимальная эффективность удаления фосфатов достигалась при плотности тока 4,54 мА/см², pH 7 и дозе электролита 4–5 г NaCl на 1 дм³.

В настоящее время большое количество экспериментов проведено по сорбции фосфатов из водных растворов различными сорбентами. В работе [16] исследованы отходы производства, содержащие алюминий, железо, кальций и магний. Максимальная сорбционная емкость составила 70,8 мг PO₄³⁻/г для термообработанного доломита. Низкая сорбционная емкость была получена при исследовании мела, глины, трепела и осадка электрокоагуляционной очистки сточных вод.

Кукурузный початок, жом и древесный уголь использовались в качестве сорбентов для повышения эффективности удаления фосфатов на построенном искусственном водно-болотном угодье с вертикальным потоком. Сорбенты получали путем высушивания и измельчения до фракции размером менее 1 мм. Каолинит был выбран в качестве основания водно-болотного угодья в связи с его высокой сорбционной способностью по отношению к фосфатам. Анализ проб в течение 6 недель показал повышение эффективности очистки воды от фосфатов примерно на 6% при добавлении сорбентов [18].

В качестве дешевых сорбентов исследованы летучая зола и шлак, являющиеся золошлаковыми отходами электростанций [21–24]. Эффективность извлечения фосфатов составила при использовании шлака 96,15%, при использовании золы 96,9% [21]; добавление портландцемента к летучей золе и шлаку привело к снижению эффективности очистки воды от фосфатов [22]; максимальное значение эффективности извлечения фосфатов равнялось 83,8% [23]. В обзоре [24] рассмотрено применение отходов тепловой электростанции в качестве вторичных ресурсов для использования в промышленном секторе и сельском хозяйстве. Установлено, что золошлаковые отходы отвечают F-типу международной классификации ASTM C 618. Рекомендовано использовать золошлаковые отходы в качестве сорбентов для очистки хозяйственно-бытовых сточных вод.

В ходе проведенных нами исследований был получен сорбент путем высушивания и прокаливания при 600 °С золошлаковых отходов Новочеркасской государственной районной электростанции (ГРЭС) (г. Новочеркасск, Ростовская область, Россия). Данный отход отвечает V классу опасности. Химический состав золошлака, отобранного на 3-й секции золоотвала Новочеркасской ГРЭС, составил, мг/кг: кадмий – менее 0,1; медь – 13,3±3,3; ртуть – менее 0,1; никель – менее 0,5; свинец – 6,4±1,6; цинк – менее 1,0; кобальт – менее 0,5; железо – 662±166; марганец – 450±113; мышьяк – менее 0,1; селен – менее 0,1; сурьма – менее 1,0; висмут – менее 1,0; кальций – 58300±14575; алюминий – 22,2±5,6. Содержание диоксида кремния составило 23,1%, влажность – 60,3%. Проведены исследования содержания различных форм металлов, в том числе подвижных и валовых. Сырье сорбента (золошлак) преимущественно содержит валовые формы металлов, что объясняется процессом его образования (взаимодействие с водой в ходе образования пульпы золошлакоудаления) и хранения на открытых полигонах (регулярное воздействие атмосферных осадков, вымывание водорастворимых и подвижных компонентов в нижние слои почвы). Это также подтверждается биотестированием водной вытяжки, которая не оказывает токсического воздействия на гидробионты, и результатами измерений массовой концентрации сухого остатка (минерализации) водной вытяжки. Доля уноса растворимой части сорбента составляет порядка 0,3%, что не оказывает значительного влияния на качество очищаемой воды [25]. Определены физико-химические показатели прокаленного сорбента: насыпная плотность – 0,666 г/см³, зольность – 99,5%, суммарный объем пор – 0,506 см³/г, истираемость – 8,5%, влажность – менее 1%. В результате гранулометрического анализа выявлено, что 95,2% массы

прокаленного сорбента приходится на фракцию от 0,25 до 0,5 мм [26]. Изучено адсорбционное равновесие при физической сорбции [27] и кинетика сорбции [28] в системе ионы аммония – прокаленный сорбент. Максимальное значение сорбционной емкости по ионам аммония по изотерме Ленгмюра составило порядка 1,1251 мг/г при дозе сорбента 1 г на 50 см³ раствора.

Цель текущей работы, в свою очередь, заключалась в экспериментальном исследовании кинетики сорбции фосфатов прокаленным сорбентом на основе золошлаковых отходов предприятия теплоэнергетики и апробации сорбента на открытом стоке в реку Кубань, содержащем ливневые и хозяйственно-бытовые сточные воды.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом проведенного исследования являлся прокаленный сорбент на основе золошлаковых отходов Новочеркасской ГРЭС, накопленных на золоотвале по схеме гидрозолоудаления. В ходе работ был применен спектрофотометрический метод исследований.

Методика приготовления исходных растворов, построение градуировочной характеристики и проведение серии экспериментальных исследований прокаленного сорбента приняты такими же, как по ионам аммония (подробно они изложены нами в работе [27]). Основной градуировочный раствор готовили на основе ГСО 7748-99 с аттестованным содержанием фосфат-ионов 1 г/дм³ и погрешностью ±1% при доверительной вероятности $P = 0,95$. Исходная концентрация фосфатов в модельных водных растворах составляла 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 и 300 мг/дм³. Содержание фосфатов рассчитывали по градуировочной зависимости от оптической плотности раствора. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре ПЭ-5300ВИ (ООО «Экротех», Россия).

Сорбционную емкость (величину адсорбции) прокаленного сорбента A , мг/г, по отношению к фосфатам рассчитывали по уравнению, учитывающему поровый объем сорбента:

$$A = \frac{c_0 V - [C(V - v_p m)]}{m} = \frac{(c_0 - C)V}{m} + C v_p, \quad (1)$$

где C_0 – начальная концентрация фосфатов в растворе, мг/дм³; C – текущая концентрация фосфатов в растворе после сорбции за определенный промежуток времени, мг/дм³; V – объем исходного раствора ($V = 0,05$ дм³); m – масса сорбента, г; v_p – удельный поровый объем прокаленного сорбента ($v_p = 0,506 \times 10^{-3}$ дм³/г).

Эффективность извлечения фосфатов E , %, определяли с учетом жидкости, задерживаемой объемом пор сорбента, по уравнению:

$$E = \frac{c_0 V - (V - v_p m) C}{c_0 V} \times 100 = \left(\frac{c_0 - C}{c_0} + \frac{v_p m C}{c_0 V} \right) \times 100. \quad (2)$$

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оптимизация pH раствора. Исследован раствор с содержанием фосфатов $C_0 = 20$ мг/дм³. Доза сорбента m принята равной 1 г на 50 см³ модельного раствора, время сорбции $t = 180$ мин, частота вращения магнитной мешалки $\nu = 200$ об/мин. Серия растворов с установленными значениями pH приготовлена по процедуре, изложенной в источнике [27]. Результаты приведены в табл. 1.

Таблица 1. Оптимизация pH раствора

Table 1. Optimization of pH of the solution

pH	C, мг/дм ³	E, %	A, мг/г
4	11,0468	45,324	0,4539
5	3,8025	81,180	0,8113
6	1,8907	90,642	0,9064
7	0,5608	97,224	0,9716
8	0,5331	97,362	0,9739
9	0,9487	95,305	0,9532

Согласно данным табл. 1, максимальное значение сорбционной емкости *A* и эффективности очистки *E* достигнуто при pH, равном 7 и 8. В дальнейших исследованиях значение pH растворов принято равным 7.

Оптимизация частоты вращения магнитной мешалки. Исследован раствор с содержанием фосфатов $C_0 = 20$ мг/дм³. Доза сорбента *m* принята равной 1 г на 50 см³ модельного раствора, pH = 7, время сорбции *t* = 180 мин. Частота вращения магнитной мешалки ММ 2А (Laboratorni pristroje, Чехия) *v* варьировалась от 50 до 500 об/мин. Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2. Оптимизация частоты вращения магнитной мешалки

Table 2. Optimization of the rotation frequency of the magnetic stirrer

v, об/мин	C, мг/дм ³	E, %	A, мг/г
50	10,7004	47,039	0,4710
100	5,6439	72,066	0,7211
150	1,6275	91,945	0,9213
200	1,1149	94,482	0,9435
300	1,1288	94,413	0,9426
500	1,1149	94,482	0,9456

Таблица 4. Влияние исходной концентрации фосфатов в растворе на величину адсорбции и эффективность извлечения фосфатов из раствора (кинетика сорбции)

Table 4. Effect of the initial concentration of phosphates in the solution on the amount of adsorption and the efficiency of phosphate extraction from the solution (sorption kinetics)

t, мин	C, мг/дм ³	C ₀ = 2 мг/дм ³		C ₀ = 50 мг/дм ³		
		E, %	A, мг/г	C, мг/дм ³	E, %	A, мг/г
10	0,625	69,080	0,06898	23,340	53,791	1,3464
30	0,378	81,285	0,08105	18,353	63,665	1,5916
60	0,190	90,609	0,09056	13,089	74,088	1,8505
90	0,143	92,941	0,09273	11,565	77,104	1,9266
120	0,145	92,803	0,09277	11,288	77,652	1,9446
		C ₀ = 5 мг/дм ³		C ₀ = 100 мг/дм ³		
10	0,988	80,446	0,2013	57,658	42,924	2,1499
30	0,628	87,577	0,2193	48,307	52,183	2,6050
60	0,312	93,830	0,2348	41,380	59,039	2,9487
90	0,193	96,189	0,2405	39,302	61,096	3,0481
120	0,187	96,299	0,2405	38,956	61,439	3,0689
		C ₀ = 10 мг/дм ³		C ₀ = 200 мг/дм ³		
10	0,723	92,847	0,4650	147,512	26,990	2,7011
30	0,487	95,178	0,4765	132,273	34,535	3,4435
60	0,293	97,098	0,4842	122,576	39,334	3,9255
90	0,261	97,418	0,4873	119,805	40,703	4,0748
120	0,242	97,601	0,4874	118,420	41,391	4,1300
		C ₀ = 20 мг/дм ³		C ₀ = 300 мг/дм ³		
10	2,196	89,134	0,8895	242,381	20,022	3,0094
30	1,503	92,562	0,9270	228,527	24,597	3,6797
60	0,949	95,304	0,9549	217,444	28,252	4,2382
90	0,588	97,087	0,9712	214,674	29,167	4,3711
120	0,561	97,224	0,9742	214,674	29,167	4,3698

Согласно данным табл. 2, максимальное значение сорбционной емкости *A* и эффективности очистки *E* достигнуто при значении *v*, равном 200, 300 и 500 об/мин. В дальнейших исследованиях значение *v* принято равным 200 об/мин.

Оптимизация времени достижения равновесия. Исследован раствор с содержанием фосфатов $C_0 = 20$ мг/дм³. Доза сорбента *m* принята равной 1 г на 50 см³ модельного раствора, pH = 7. Частота вращения магнитной мешалки *v* = 200 об/мин. Время сорбции *t* варьировалось от 10 до 210 мин. Результаты приведены в табл. 3. Сделан вывод о достижении равновесия в течение 120 мин.

Таблица 3. Оптимизация времени достижения равновесия

Table 3. Optimization of the time to reach equilibrium

t, мин	C, мг/дм ³	E, %	A, мг/г
10	2,196	89,134	0,8895
30	1,503	92,562	0,9270
60	0,949	95,304	0,9549
90	0,588	97,087	0,9712
120	0,561	97,224	0,9742
150	0,561	97,224	0,9730
180	0,547	97,293	0,9717
210	0,561	97,224	0,9731

Влияние исходной концентрации фосфатов в растворе на величину адсорбции и эффективность извлечения фосфатов из раствора. Было приготовлено по 5 модельных растворов с содержанием C_0 фосфатов от 2 до 300 мг/дм³. Доза сорбента *m* принята равной порядка 1 г на 50 см³ модельного раствора, частота вращения перемешивающего устройства *v* = 200 об/мин, pH = 7, время сорбции *t* варьировалось от 10 до 120 мин. Результаты приведены в табл. 4.

С ростом начальной концентрации фосфатов в рас-

творе C_0 величина сорбционной емкости сорбента A возрастает, а эффективность их извлечения E из раствора сначала возрастает, затем понижается. Наибольшие значения E отмечены при C_0 , равной 10 и 20 мг/дм³.

Кинетические модели адсорбции. Экспериментальные данные по кинетике сорбции (см. табл. 4) опишем широко применяемыми кинетическими моделями [29]:

– псевдопервого порядка (уравнение Лагергрена):

$$A_t = A_e(1 - e^{-k_1 t}); \quad (3)$$

– псевдвторого порядка (уравнение Хо и Маккея):

$$A_t = \frac{A_e^2 k_2 t}{A_e k_2 t + 1}, \quad (4)$$

где A_t – значение сорбционной емкости в момент времени t , мг/г; A_e – равновесная величина адсорбции, мг/г; k_1, k_2 – константы скорости адсорбции моделей псевдопервого и псевдвторого порядка.

Линеаризация уравнений (3)–(4) имеет следующий вид:

$$\ln(A_e - A_t) = \ln(A_e - k_1 t); \quad (5)$$

$$\frac{t}{A_t} = \frac{1}{k_2 A_e^2} + \frac{t}{A_e}. \quad (6)$$

В табл. 5 и 6 приведены значения параметров уравнений (3) и (4), полученные при обработке данных для исходных концентраций фосфатов C_0 в растворе 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 и 300 мг/дм³. Параметр A_e в модели псевдопервого порядка определен методом постепенного приближения, который был рассмотрен и применен нами в работе [28] при описании кинетики извлечения прокаленным сорбентом ионов аммония из раствора.

Таблица 5. Константы модели псевдопервого порядка (Лагергрена)

Table 5. Constants of the pseudo-first order (Lagergren model)

C_0 , мг/дм ³	A_e , мг/г	k_1 , мин ⁻¹	R^2
2	0,09277753	0,0779	0,9673
5	0,24050454	0,0959	0,8743
10	0,48740001	0,1225	0,8340
20	0,97420083	0,0941	0,7795
50	1,945265	0,0598	0,9382
100	3,06951	0,0639	0,9407
200	4,13159	0,0581	0,9251
300	4,37116	0,0832	0,7297

Примечание. Здесь и в табл. 6 R^2 – коэффициент детерминации.

В реальных бытовых сточных водах концентрация фосфатов может достигать 20 мг/дм³. В этом случае максимальное значение величины адсорбции составит порядка 1 мг фосфатов на 1 г прокаленного сорбента.

На рис. 1 и 2 приведена кинетика сорбции. Показано сравнение экспериментальных данных и расчетных зависимостей по моделям псевдопервого (см. рис. 1) и псевдвторого (см. рис. 2) порядков в виде зависимости величины адсорбции A , мг/дм³, от продолжительности сорбции t , мин. На рис. 1, а и 2, а зависимость $A = f(t)$ приведена для исходных концентраций фосфатов C_0 от 2 до 20 мг/дм³, а на рис. 1, б и 2, б – для исходных

Таблица 6. Константы модели псевдвторого порядка (Хо и Маккея)

Table 6. Constants of the pseudo-second order (Ho and McKay model)

C_0 , мг/дм ³	A_e , мг/г	k_2 , г/(мг×мин)	R^2
2	0,0967	2,2674	0,9996
5	0,2467	1,4064	0,9998
10	0,4903	2,9437	1,0000
20	0,9858	0,6569	0,9999
50	2,0559	0,0724	0,9991
100	3,2248	0,0533	0,9996
200	4,3725	0,0329	0,9997
300	4,6147	0,0360	0,9994

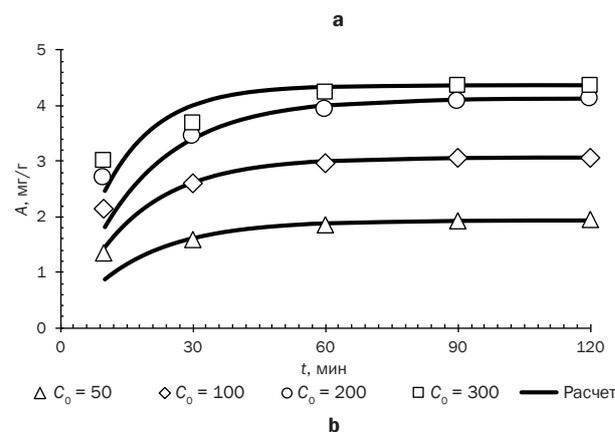
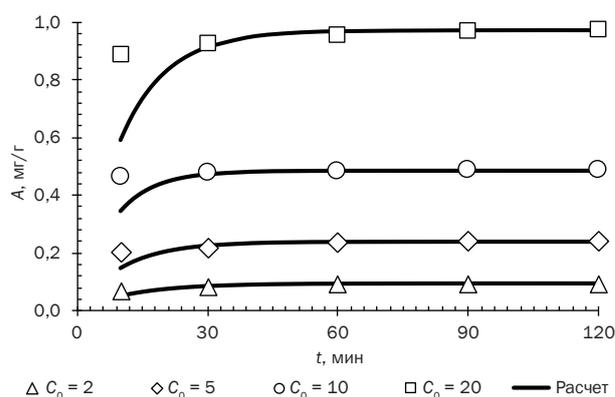


Рис. 1. Кривые кинетики псевдопервого порядка: а – при начальных концентрациях от 2 до 20 мг/дм³; б – при начальных концентрациях от 50 до 300 мг/дм³

Fig. 1. Pseudo-first order kinetic curves: а – $C_0 = 2-20$ mg/L; б – $C_0 = 50-300$ mg/L

концентраций фосфатов C_0 от 50 до 300 мг/дм³.

Лучшее согласование между расчетными и экспериментальными данными зависимости величины адсорбции A от продолжительности сорбции t получено по уравнению псевдвторого порядка для всех исходных концентраций фосфатов в растворе.

Для построения расчетной зависимости $E = f(C_0)$ по уравнению (2) предварительно вычислим концентрацию фосфатов в растворе C , мг/дм³, следующим образом. По уравнению псевдвторого порядка (4) рассчитаем величину адсорбции A , мг/г, для каждой исходной концентрации фосфатов в растворе C_0 , используя найденные константы,

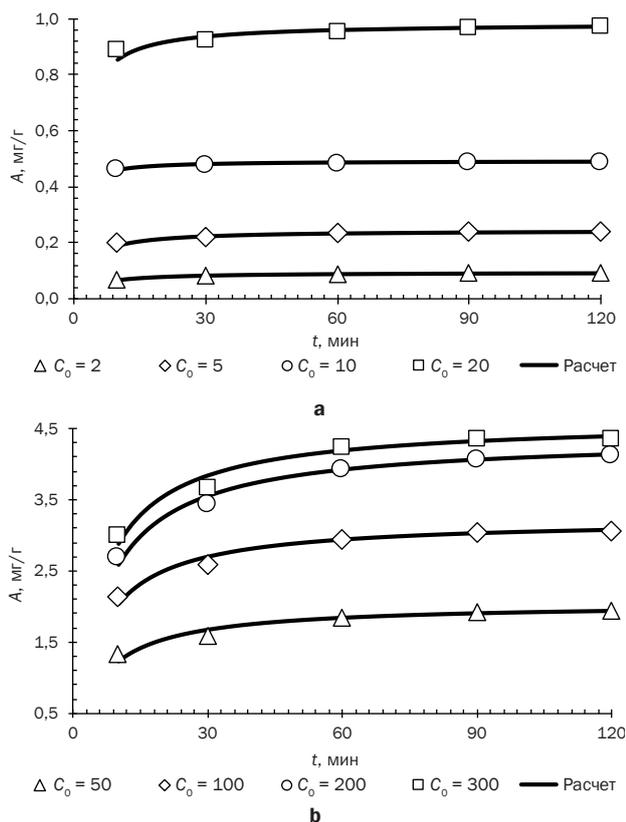


Рис. 2. Кривые кинетики псевдовторого порядка: а – при начальных концентрациях от 2 до 20 мг/дм³; б – при начальных концентрациях от 50 до 300 мг/дм³

Fig. 2. Pseudo-second order kinetic curves: а – $C_0 = 2-20$ mg/L; б – $C_0 = 50-300$ mg/L

приведенные в табл. 6. Из уравнения (1) выразим значение концентрации фосфатов в растворе C после сорбции:

$$C = \frac{C_0 V - Am}{V - v_p m} \quad (7)$$

Расчетные значения C подставим в уравнение (2) и найдем расчетное значение эффективности извлечения E фосфатов из раствора. На рис. 3 приведено сравнение экспериментальных и расчетных значений эффективности извлечения фосфатов из раствора. Качественное и количественное согласование наблюдается при всех экспериментальных значениях C_0 . Максимальные значения эффективности извлечения фосфатов приходятся на значения C_0 в диапазоне от 10 до 20 мг/дм³.

Аналогичная закономерность приведена в работе [30]. Твердые отходы роликовой печи, образующиеся на керамическом заводе (Египет), используются в качестве сорбента. С ростом C_0 фосфат-ионов с 1,0 до 5,5 мг/дм³ эффективность адсорбции увеличилась с 94,5 до 99,97%. Дальнейшее увеличение C_0 фосфат-ионов с 5,5 до 13,0 г/дм³ привело к снижению эффективности удаления фосфат-ионов с 99,97 до 90,98% ($pH = 8$, $T = 25$ °C, $m = 3,5$ г/дм³, $t = 50$ мин).

Исследование синтетического цеолита из летучей золы угольной электростанции в провинции Хубэй (Китай) для очистки сточных вод с высокой концентрацией фосфора также показало максимум эффективности

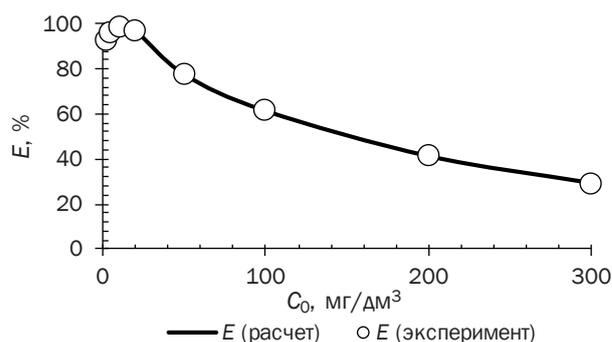


Рис. 3. Сравнение экспериментальных и расчетных значений эффективности извлечения фосфатов из раствора

Fig. 3. Comparison of experimental and calculated values of the efficiency of phosphate extraction from solution

извлечения фосфора при увеличении исходной концентрации фосфора в растворе [31].

Для определения эффективности извлечения фосфатов прокаленным сорбентом из реальной сточной воды проведены отборы образцов воды из открытого стока в р. Кубань, расположенного в районе Тургеневского моста г. Краснодара. Концентрация фосфатов в стоке составила 12,2 мг/дм³. Параметры статической сорбции были следующими: $t = 120$ мин, $v = 200$ об/мин, $pH = 7$, $T = 25 \pm 2$ °C. Результаты исследований приведены в табл. 7.

Таблица 7. Результаты исследований статической сорбции (фазового равновесия) в системе фосфаты – прокаленный сорбент для реальной сточной воды

Table 7. Results of studies of static sorption (phase equilibrium) in the phosphate – calcined sorbent system for real wastewater

C_0 , мг/дм ³	m , г	C_e , мг/дм ³	A_e , мг/г	E , %
12,2	0,2004	7,099	1,2764	41,933
	0,4998	0,247	1,1959	97,986
	0,9999	0,145	0,6029	98,820
	2,0011	0,134	0,3015	98,921
	3,0002	0,126	0,2013	98,998
	4,9998	0,115	0,1209	99,106

В работе [32] приведены данные по фазовому равновесию в модельных растворах в системе фосфаты – прокаленный сорбент. При исходной концентрации фосфатов 10 мг/дм³ получены следующие результаты: при дозе прокаленного сорбента $m = 1,0013$ г эффективность извлечения фосфатов $E = 97,601\%$; при $m = 2,002$ г $E = 98,684\%$; при $m = 5,0013$ г $E = 99,014\%$.

Сравнение эффективности извлечения фосфатов в зависимости от дозы прокаленного сорбента для модельных растворов и сточной воды приведено на рис. 4. Кривая эффективности для сточной воды с концентрацией фосфатов 12,2 мг/дм³ расположена выше кривой эффективности для модельных растворов с концентрацией фосфатов 10 мг/дм³. Это объясняется тем, что, согласно экспериментальным данным табл. 4, при прочих равных условиях с увеличением исходной концентрации фосфатов увеличивается эффективность их извлечения.

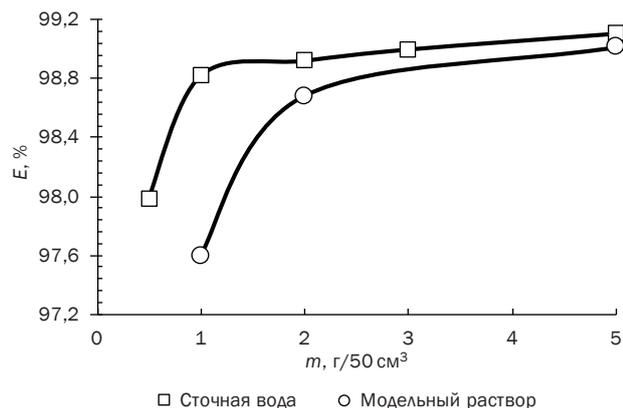


Рис. 4. Зависимость эффективности извлечения фосфатов от дозы прокаленного сорбента для модельных растворов при исходной концентрации 10 мг/дм³ и сточной воды при исходной концентрации 12,2 мг/дм³

Fig. 4. Dependence of the efficiency of phosphate extraction on the dose of calcined sorbent for model solutions with an initial concentration of 10 mg/L and wastewater with an initial concentration of 12.2 mg/L

Можно сделать вывод, что эффективность извлечения фосфатов из модельных растворов и сточной воды является достаточно высокой при дозах сорбента от 2 до 5 г на 50 см³ раствора.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе результатов проведенных исследований можно сделать вывод о применимости золошлаковых отходов Новочеркасской ГРЭС в качестве сорбента для очистки водных растворов и сточных вод от фосфатов. Лучшее описание кинетики сорбции получено по уравнению псевдодвухго порядка по сравнению с уравнением псевдопервого порядка для всех исходных концентраций фосфатов 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 и 300 мг/дм³ в модельных растворах. Выявлен максимум эффективности извлечения фосфатов в диапазоне значений исходной концентрации фосфатов в растворе от 10 до 20 мг/дм³. Апробация прокаленного сорбента проведена на реальной сточной воде. Эффективность извлечения фосфатов из модельных растворов и реальной сточной воды является достаточно высокой и составляет 97–99% при дозах сорбента от 2 до 5 г на 50 см³ раствора. Полученные результаты согласуются с результатами зарубежных исследований.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Fetene Y., Addis T. Adsorptive removal of phosphate from wastewater using Ethiopian rift pumice: batch experiment // *Air, Soil and Water Research*. 2020. Vol. 13. DOI: 10.1177/1178622120969658.
2. Chen Q., Ni Z., Wang S., Guo Y., Liu S. Climate change and human activities reduced the burial efficiency of nitrogen and phosphorus in sediment from Dianchi Lake, China // *Journal of Cleaner Production*. 2020. Vol. 274. P. 122839. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.122839.
3. Ismail Z.Z. Kinetic study for phosphate removal from water by recycled date-palm wastes as agricultural by-products // *International Journal of Environmental Studies*. 2012. Vol. 69, no. 1. P. 135–149. DOI: 10.1080/00207233.2012.656975.
4. Radini S., Marinelli E., Akyol Ç., Eusebi A. L., Vasilaki V., Mancini A., et al. Urban water-energy-food-climate nexus in integrated wastewater and reuse systems: Cyber-physical framework and innovations // *Applied Energy*. 2021. Vol. 298. P. 117268. DOI: 10.1016/j.apenergy.2021.117268.
5. Mohammed S.A.M., Shanshool H.A. Phosphorus removal from water and waste water by chemical precipitation using alum and calcium chloride // *Iraqi Journal of Chemical and Petroleum Engineering*. 2009. Vol. 10, no. 2. P. 47–52. DOI: 10.31699/IJCP.E.2009.2.7.
6. Плешаков Н.А., Беликов М.Л., Сафарян С.А. Очистка воды от фосфат-ионов с применением различных реагентов // *Труды Кольского научного центра РАН. Серия технические науки*. 2023. Т. 14. N 5. С. 60–66. DOI: 10.37614/2949-1215.2023.14.5.011. EDN: ZBIBTW.
7. Морозенко М.И., Никулина С.Н., Черняев С.И. Коагуляционная очистка сточных вод металлургического предприятия // *Фундаментальные исследования*. 2016. N 12-2. С. 318–323. EDN: XIISVV.
8. Appeldoorn K.J., Kortstee G.J.J., Zehnder A.J.B. Biological phosphate removal by activated sludge under defined conditions // *Water Research*. 1992. Vol. 26, no. 4. P. 453–460. DOI: 10.1016/0043-1354(92)90045-6.
9. Van Loosdrecht M.C.M., Hooijmans C.M., Brdjanovic D., Heijnen J.J. Biological phosphate removal processes // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1997. Vol. 48. P. 289–296. DOI: 10.1007/s002530051052.
10. Теплых С.Ю., Бочков Д.С., Базарова А.О. Перспективные методы биологического удаления фосфатов из сточной воды // *Градостроительство и архитектура*. 2021. Т. 11. N 2. С. 42–47. DOI: 10.17673/Vestnik.2021.02.07. EDN: RJYJGW.
11. Manawi Y., Hussien M., Buekenhoudt A., Zekri A., Al-Sulaiti H., Lawler J., et al. New ceramic membrane for phosphate and oil removal // *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2022. Vol. 10, no. 1. P. 106916. DOI: 10.1016/j.jece.2021.106916.
12. Drissi R., Mouats C. Removal of phosphate by ion exchange resin: kinetic and thermodynamic study // *RASĀYAN Journal of Chemistry*. 2018. Vol. 11, no. 3. P. 1126–1132. DOI: 10.31788/RJC.2018.1132081.
13. Gomelya M., Shabliy T., Radovenchuk I., Vakulenko A. Determining the efficiency of reverse osmosis in the purification of water from phosphates // *Journal of Ecological Engineering*. 2023. Vol. 24, no. 2. P. 238–246. DOI: 10.12911/22998993/157023.
14. Теплых С.Ю., Бочков Д.С., Базарова А.О. Исследование способов удаления фосфатов из бытовых сточных вод // *Градостроительство и архитектура*. 2020. Т. 10. N 4. С. 69–77. DOI: 10.17673/Vestnik.2020.04.9. EDN: AWOOST.
15. Shalaby A., Nassef E., Mubark A., Hussein M. Phosphate removal from wastewater by electrocoagulation using aluminium electrodes // *American Journal of Environmental Engineering and Science*. 2014. Vol. 1, no. 5. P. 90–98.
16. Сапон Е.Г., Марцунь В.Н. Исследование очистки сточных вод от фосфатов материалами, полученными из природного сырья и отходов // *Труды БГТУ. Серия 3. Химия и технология неорганических веществ*. 2015. N 3. С. 20–28. EDN: XAGJIX.

17. Loganathan P., Vigneswaran S., Kandasamy J., Bolan N.S. Removal and recovery of phosphate from water using sorption // *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2014. Vol. 44, no. 8. P. 847–907. DOI: 10.1080/10643389.2012.741311.

18. Danso F., Nartey E.K., Dowuona G.N.N., Darko D.A., Adjadeh T.A., Laryea K.B. Removal of phosphate from simulated domestic wastewater using sorbents under constructed wetland // *International Journal of Environment and Waste Management*. 2023. Vol. 32, no. 3. P. 273–285. DOI: 10.1504/IJEW.2023.133593.

19. Almanassra I.W., Kochkodan V., McKay G., Atieh M.A., Al-Ansari T. Review of phosphate removal from water by carbonaceous sorbents // *Journal of Environmental Management*. 2021. Vol. 287. P. 112245. DOI: 10.1016/j.jenvman.2021.112245.

20. Chouyyok W., Wiacek R.J., Pattamakomsan K., Sangvanich T., Grudzien R.M., Fryxell G.E., et al. Phosphate removal by anion binding on functionalized nanoporous sorbents // *Environmental Science & Technology*. 2010. Vol. 44, no. 8. P. 3073–3078. DOI: 10.1021/es100787m.

21. Ragheb S.M. Phosphate removal from aqueous solution using slag and fly ash // *HBRC Journal*. 2013. Vol. 9, no. 3. P. 270–275. DOI: 10.1016/j.hbrj.2013.08.005.

22. Agyei N.M., Strydom C.A., Potgieter J.H. The removal of phosphate ions from aqueous solution by fly ash, slag, ordinary Portland cement and related blends // *Cement and Concrete Research*. 2002. Vol. 32, no. 12. P. 1889–1897. DOI: 10.1016/s0008-8846(02)00888-8.

23. Hashim K.S., Ewadh H.M., Muhsin A.A., Zubaidi S.L., Kot P., Muradov M., et al. Phosphate removal from water using bottom ash: adsorption performance, coexisting anions and modelling studies // *Water Science & Technology*. 2021. Vol. 83, no. 1. P. 77–89. DOI: 10.2166/wst.2020.561.

24. Горбачева Т.Т., Майоров Д.В. Золошлаки ТЭЦ как сорбент для очистки сточных вод от ионов аммония // *Теплоэнергетика*. 2022. N 3. С. 72–79. DOI: 10.1134/S0040363622030043.

25. Korotkova T.G., Bushumov S.A., Ksandopulo S.Yu., Istoshina N.Yu. Determination of the hazard class of ash-and-slag from a thermal power plant accumulated on

ash dumps under the scheme hydraulic ash removal // *International Journal of Mechanical Engineering and Technology*. 2018. Vol. 9, no. 10. P. 715–723. EDN: YLOQPR.

26. Bushumov S.A., Korotkova T.G. Determination of physical and chemical properties of the modified sorbent from ash-and-slag waste accumulated on ash dumps by hydraulic ash removal // *RASĀYAN Journal of Chemistry*. 2020. Vol. 13, no. 3. P. 1619–1626. DOI: 10.31788/RJC.2020.1335454.

27. Короткова Т.Г., Заколюкина А.М., Бушумов С.А. Исследование адсорбционного равновесия в системе ионы аммония – прокаленный сорбент из золошлаковых отходов теплоэнергетики // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2023. Т. 13. N 2. С. 291–303. DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-2-291-303. EDN: CHSYDA.

28. Короткова Т.Г., Заколюкина А.М., Бушумов С.А. Применение моделей кинетики для исследования скорости сорбции в системе ионы аммония – прокаленный сорбент // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2024. Т. 14. N 1. С. 6–18. DOI: 10.21285/achb.894. EDN: ZDJIFM.

29. Wang J., Guo X. Adsorption kinetic models: physical meanings, applications, and solving methods // *Journal of Hazardous Materials*. 2020. Vol. 390. P. 122156. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.122156.

30. Ali D.A., Abdelwahab W.A., Roushdy M.H. Optimum phosphate ion removal from aqueous solutions using roller kiln industrial solid waste // *Scientific Reports*. 2024. Vol. 14. P. 4027. DOI: 10.1038/s41598-024-53962-9.

31. Zhang K., van Dyk L., He D., Deng J., Liu S., Zhao H. Synthesis of zeolite from fly ash and its adsorption of phosphorus in wastewater // *Green Processing and Synthesis*. 2021. Vol. 10, no. 1. P. 349–360. DOI: 10.1515/gps-2021-0032.

32. Korotkova T.G., Zakolyukina A.M., Bushumov S.A. Removing phosphates from aqueous solutions by means of static sorption on ash-and-slag sorbent: analyzing coefficients of distribution based on adsorption isotherms // *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2024. Vol. 98. P. 1838–1851. DOI: 10.1134/S0036024424700924.

REFERENCES

1. Fetene Y., Addis T. Adsorptive removal of phosphate from wastewater using Ethiopian rift pumice: batch experiment. *Air, Soil and Water Research*. 2020;13. DOI: 10.1177/1178622120969658.

2. Chen Q., Ni Z., Wang S., Guo Y., Liu S. Climate change and human activities reduced the burial efficiency of nitrogen and phosphorus in sediment from Dianchi Lake, China. *Journal of Cleaner Production*. 2020;274:122839. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.122839.

3. Ismail Z.Z. Kinetic study for phosphate removal from water by recycled date-palm wastes as agricultural by-products. *International Journal of Environmental Studies*. 2012;69(1):135-149. DOI: 10.1080/00207233.2012.656975.

4. Radini S., Marinelli E., Akyol Ç., Eusebi A. L., Vasilaki V., Mancini A., et al. Urban water-energy-food-climate nexus in integrated wastewater and reuse systems: Cyber-physical framework and innovations. *Applied Energy*. 2021;298:117268. DOI: 10.1016/j.apenergy.2021.117268.

5. Mohammed S.A.M., Shanshool H.A. Phosphorus removal from water and waste water by chemical

precipitation using alum and calcium chloride. *Iraqi Journal of Chemical and Petroleum Engineering*. 2009;10(2):47-52. DOI: 10.31699/IJCPE.2009.2.7.

6. Pleshakov N.A., Belikov M.L., Safaryan S.A. Water purification from phosphate ions using different reagents. *Transactions of the Kola Science Centre of RAS*. 2023;14(5):60-66. (In Russian). DOI: 10.37614/2949-1215.2023.14.5.011. EDN: ZBIBTW.

7. Morozenko M.I., Nikulina S.N., Chernyaev S.I. Coagulative treatment of the waste waters of metallurgical factory. *Fundamental research*. 2016;12-2:318-323. (In Russian). EDN: XIISVV.

8. Appeldoorn K.J., Kortstee G.J.J., Zehnder A.J.B. Biological phosphate removal by activated sludge under defined conditions. *Water Research*. 1992;26(4):453-460. DOI: 10.1016/0043-1354(92)90045-6.

9. Van Loosdrecht M.C.M., Hooijmans C.M., Brdjanovic D., Heijnen J.J. Biological phosphate removal processes. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1997;48:289-296. DOI: 10.1007/s002530051052.

- 10.** Teplyh S.Yu., Bochkov D.S., Bazarova A.O. Promising methods for biological removal of phosphates from wastewater. *Urban construction and architecture*. 2021;11(2):42-47. (In Russian). DOI: 10.17673/Vestnik.2021.02.07. EDN: RJYJGW.
- 11.** Manawi Y., Hussien M., Buekenhoudt A., Zekri A., Al-Sulaiti H., Lawler J., et al. New ceramic membrane for phosphate and oil removal. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2022;10(1):106916. DOI: 10.1016/j.jece.2021.106916.
- 12.** Drissi R., Mouats C. Removal of phosphate by ion exchange resin: kinetic and thermodynamic study. *RASĀYAN Journal of Chemistry*. 2018;11(3):1126-1132. DOI: 10.31788/RJC.2018.1132081.
- 13.** Gomelya M., Shabliy T., Radovenchyk I., Vakulenko A. Determining the efficiency of reverse osmosis in the purification of water from phosphates. *Journal of Ecological Engineering*. 2023;24(2):238-246. DOI: 10.12911/22998993/157023.
- 14.** Teplyh S.Yu., Bochkov D.S., Bazarova A.O. Investigation of methods for removal of phosphates from household waste water. *Urban construction and architecture*. 2020;10(4):69-77. (In Russian). DOI: 10.17673/Vestnik.2020.04.9. EDN: AWOOST.
- 15.** Shalaby A., Nassef E., Mubark A., Hussein M. Phosphate removal from wastewater by electrocoagulation using aluminium electrodes. *American Journal of Environmental Engineering and Science*. 2014;1(5):90-98.
- 16.** Sapon Ye.G., Martsul V.N. Phosphates purification of waste water by natural materials and industrial wastes (comparative study). *Trudy BGTU. Seriya 3. Khimiya i tekhnologiya neorganicheskikh veshchestv*. 2015;3:20-28. (In Russian). EDN: XAGJIX.
- 17.** Loganathan P., Vigneswaran S., Kandasamy J., Bolan N.S. Removal and recovery of phosphate from water using sorption. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2014;44(8):847-907. DOI: 10.1080/10643389.2012.741311.
- 18.** Danso F., Nartey E.K., Dowuona G.N.N., Darko D.A., Adjadeh T.A., Laryea K.B. Removal of phosphate from simulated domestic wastewater using sorbents under constructed wetland. *International Journal of Environment and Waste Management*. 2023;32(3):273-285. DOI: 10.1504/IJEW.2023.133593.
- 19.** Almanassra I.W., Kochkodan V., Mckay G., Atieh M.A., Al-Ansari T. Review of phosphate removal from water by carbonaceous sorbents. *Journal of Environmental Management*. 2021;287:112245. DOI: 10.1016/j.jenvman.2021.112245.
- 20.** Chouyyok W., Wiacek R.J., Pattamakomsan K., Sangvanich T., Grudzien R.M., Fryxell G.E., et al. Phosphate removal by anion binding on functionalized nanoporous sorbents. *Environmental Science & Technology*. 2010;44(8):3073-3078. DOI: 10.1021/es100787m.
- 21.** Ragheb S.M. Phosphate removal from aqueous solution using slag and fly ash. *HBRC Journal*. 2013;9(3):270-275. DOI: 10.1016/j.hbrj.2013.08.005.
- 22.** Agyei N.M., Strydom C.A., Potgieter J.H. The removal of phosphate ions from aqueous solution by fly ash, slag, ordinary Portland cement and related blends. *Cement and Concrete Research*. 2002;32(12):1889-1897. DOI: 10.1016/S0008-8846(02)00888-8.
- 23.** Hashim K.S., Ewadh H.M., Muhsin A.A., Zubaidi S.L., Kot P., Muradov M., et al. Phosphate removal from water using bottom ash: adsorption performance, coexisting anions and modelling studies. *Water Science & Technology*. 2021;83(1):77-89. DOI: 10.2166/wst.2020.561.
- 24.** Gorbacheva T.T., Mayorov D.V. TPP ashes as a sorbent for waste water purification from ammonium ions. *Teplenergetika*. 2022;3:72-79. (In Russian). DOI: 10.1134/S0040363622030043.
- 25.** Korotkova T.G., Bushumov S.A., Ksandopulo S.Yu., Istoshina N.Yu. Determination of the hazard class of ash-and-slag from a thermal power plant accumulated on ash dumps under the scheme hydraulic ash removal. *International Journal of Mechanical Engineering and Technology*. 2018;9(10):715-723. EDN: YLOQPR.
- 26.** Bushumov S.A., Korotkova T.G. Determination of physical and chemical properties of the modified sorbent from ash-and-slag waste accumulated on ash dumps by hydraulic ash removal. *RASĀYAN Journal of Chemistry*. 2020;13(3):1619-1626. DOI: 10.31788/RJC.2020.1335454.
- 27.** Korotkova T.G., Zakolyukina A.M., Bushumov S.A. Investigation of adsorption equilibrium in the system of ammonium ions and a calcined sorbent from ash and slag waste of thermal power plants. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(2):291-303. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-2-291-303. EDN: CHSYDA.
- 28.** Korotkova G.T., Zakolyukina A.M., Bushumov S.A. Application of kinetic models to study the sorption rate in the 'ammonium ions – calcined sorbent' system. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(1):6-18. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.894. EDN: ZDJIFM.
- 29.** Wang J., Guo X. Adsorption kinetic models: physical meanings, applications, and solving methods. *Journal of Hazardous Materials*. 2020;390:122156. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.122156.
- 30.** Ali D.A., Abdelwahab W.A., Roushdy M.H. Optimum phosphate ion removal from aqueous solutions using roller kiln industrial solid waste. *Scientific Reports*. 2024;14:4027. DOI: 10.1038/s41598-024-53962-9.
- 31.** Zhang K., van Dyk L., He D., Deng J., Liu S., Zhao H. Synthesis of zeolite from fly ash and its adsorption of phosphorus in wastewater. *Green Processing and Synthesis*. 2021;10(1):349-360. DOI: 10.1515/gps-2021-0032.
- 32.** Korotkova T.G., Zakolyukina A.M., Bushumov S.A. Removing phosphates from aqueous solutions by means of static sorption on ash-and-slag sorbent: analyzing coefficients of distribution based on adsorption isotherms. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2024;98:1838-1851. DOI: 10.1134/S0036024424700924.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Короткова Татьяна Германовна,
д.т.н., доцент, профессор,
Кубанский государственный
технологический университет,
350072, г. Краснодар, ул. Московская, 2,
Российская Федерация,
✉ korotkova1964@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9278-871X>

Заколюкина Алина Маратовна,
младший научный сотрудник,
Кубанский государственный
технологический университет,
350072, г. Краснодар, ул. Московская, 2,
Российская Федерация,
✉ zakolyukina_AM@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9879-531X>

Бушумов Святослав Андреевич,
младший научный сотрудник,
Кубанский государственный
технологический университет,
350072, г. Краснодар, ул. Московская, 2,
Российская Федерация,
✉ bushumov@list.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7227-0614>

Вклад авторов

Т.Г. Короткова – разработка концепции,
научное руководство, получение
финансирования, редактирование рукописи.
А.М. Заколюкина – проведение исследования,
написание черновика рукописи.
С.А. Бушумов – разработка методологии,
проведение исследования, написание
черновика рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 11.02.2025.
Одобрена после рецензирования 12.05.2025.
Принята к публикации 01.09.2025.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Tatyana G. Korotkova,
Dr. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Professor,
Kuban State Technological University,
2, Moskovskaya St., Krasnodar, 350072,
Russian Federation,
✉ korotkova1964@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9278-871X>

Alina M. Zakolyukina,
Junior Researcher,
Kuban State Technological University,
2, Moskovskaya St., Krasnodar, 350072,
Russian Federation,
✉ zakolyukina_AM@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9879-531X>

Svyatoslav A. Bushumov,
Junior Researcher,
Kuban State Technological University,
2, Moskovskaya St., Krasnodar, 350072,
Russian Federation,
✉ bushumov@list.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7227-0614>

Contribution of the authors

Tatyana G. Korotkova – conceptualization,
supervision, funding acquisition, editing.
Alina M. Zakolyukina – investigation,
writing – original draft.
Svyatoslav A. Bushumov – methodology,
investigation, writing – original draft.

Conflict of interest

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 11.02.2025.
Approved after reviewing 12.05.2025.
Accepted for publication 01.09.2025.



Оценка эффективности культивирования микроорганизмов – продуцентов белка на гидролизатах пивной дробины

Д.С. Кожемякин✉, Е.П. Каменская, В.П. Вистовская

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова,
Барнаул, Российская Федерация

Аннотация. Целью настоящего исследования являлась оценка эффективности культивирования штаммов дрожжей и дрожжеподобных грибов на средах, полученных из отходов пивоваренного производства, таких как пивная дробина и ее ферментативный гидролизат. В работе использованы продуценты кормового белка: штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-365, *Saccharomyces cerevisiae* Y-722, *Saccharomyces cerevisiae* Y-1155 и штамм дрожжеподобных грибов *Saccharomycopsis fibuligera* Y-310 из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов. Исследовано изменение численности данных микроорганизмов в процессе культивирования на пивной дробине без использования мультэнзимной композиции и на ее ферментативном гидролизате. Рассчитаны показатели эффективности биоконверсии редуцирующих сахаров и установлены изменения концентрации белка в процессе культивирования. Показано, что для повышения эффективности биоконверсии пивной дробины целесообразна предварительная обработка сырья с использованием комплекса ферментов целлюлолитического, гемицеллюлазного и протеолитического действия, при этом продуктами ферментализации являются моно-, дисахариды, аминокислоты, являющиеся источниками энергии, углерода и азота, необходимые для дальнейшего продуцирования микробного белка. Экспериментально подтверждено, что максимальная эффективность биоконверсии редуцирующих сахаров 78,6%, а также прирост количества белка в 10,5 раза отмечаются при культивировании штамма *Saccharomyces cerevisiae* Y-365 на ферментализате пивной дробины. Результаты исследования могут быть полезны при получении кормовых добавок на основе процесса биоферментации пивной дробины с использованием штамма *Saccharomyces cerevisiae* Y-365, позволяя более качественно использовать пивную дробину, повысив ее питательную ценность и усвояемость.

Ключевые слова: белок, гидролизаты, дрожжи, пивная дробина, редуцирующие сахара, ферментные препараты

Для цитирования: Кожемякин Д.С., Каменская Е.П., Вистовская В.П. Оценка эффективности культивирования микроорганизмов – продуцентов белка на гидролизатах пивной дробины // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 3. С. 433–438. DOI: 10.21285/achb.983. EDN: MXBKIG.

BRIEF COMMUNICATION

Efficiency of culturing protein-producing microorganisms in the hydrolysates of brewer's spent grain

Denis S. Kozhemyakin✉, Elena P. Kamenskaya, Viktoria P. Vistovskaya

Polzunov Altai State Technical University, Barnaul, Russian Federation

Abstract. The present study aims to evaluate the efficiency of culturing yeast strains and yeast-like fungi in media derived from the byproducts of the brewing process, such as brewer's spent grain and its enzymatic hydrolysate. The study used the following feed protein producers: *Saccharomyces cerevisiae* strains (Y-365, Y-722, and Y-1155) and a strain of yeast-like fungi, *Saccharomycopsis fibuligera* strain Y-310, from the All-Russian Collection of Industrial Microorganisms. Changes in the number of these microorganisms were studied in the process of their culturing in

brewer's spent grain without the use of a multienzyme composition and in its enzymatic hydrolysate. Bioconversion efficiency for reducing sugars and changes in protein concentration during culturing were determined. It was shown that in order to increase the efficiency of bioconversion of brewer's spent grain, a pre-treatment of raw materials using a complex of cellulolytic, hemicellulase, and proteolytic enzymes is recommended; the products of enzymolysis are monosaccharides, disaccharides, and amino acids, which are the sources of energy, carbon and nitrogen, necessary for further production of microbial protein. The bioconversion of reducing sugars was experimentally confirmed to have the maximum efficiency of 78.6%; also, a 10.5-fold increase in the amount of protein was observed when culturing *Saccharomyces cerevisiae* strain Y-365 in the enzyme lysate of brewer's spent grain. The study results can be used in obtaining feed additives through the biofermentation of brewer's spent grain with *Saccharomyces cerevisiae* strain Y-365 and will enable a better use of brewer's spent grain, increasing its nutritional value and digestibility.

Key words: protein, hydrolysates, yeast, brewer's spent grain, reducing sugars, enzymatic preparations

For citation: Kozhemyakin D.S., Kamenskaya E.P., Vitovskaya V.P. Efficiency of culturing protein-producing microorganisms in the hydrolysates of brewer's spent grain. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(3):433-438. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.983. EDN: MXBKIG.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время актуальность вопроса переработки вторичных сырьевых ресурсов ни у кого не вызывает сомнений. Касается эта проблема и пивоваренных производств, где образуется значительное количество вторичных сырьевых ресурсов, основную долю из которых занимает пивная дробина. Химический состав дробины, в зависимости от ряда факторов, может значительно различаться, но в целом она характеризуется высоким уровнем протеинов и высокомолекулярных полисахаридов: целлюлозы, лигнина и гемицеллюлозы. Кроме того, дробина содержит в своем составе ряд аминокислот, витаминов, макро- и микроэлементов и т.д. [1–6]. В основном пивная дробина используется в кормовых целях, однако в последнее время актуальным является ее использование в качестве субстрата для культивирования различных групп микроорганизмов [7–13].

Для повышения эффективности биоконверсии пивной дробины целесообразна предварительная обработка сырья, в частности ферментализация с использованием комплекса ферментов целлюлолитического, гемицеллюлазного и протеолитического действия, продуктами которого являются моно-, дисахариды, аминокислоты, являющиеся источниками энергии, углерода и азота, необходимые для дальнейшего продуцирования микробного белка [14–18].

В связи с вышесказанным целью проведенного исследования заключалась в осуществлении сравнительной оценки эффективности культивирования различных микроорганизмов – продуцентов белка на пивной дробине и на ее ферментализате.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объектов исследования использовались четыре продуцента кормового белка Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов: штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-365, *Saccharomyces cerevisiae* Y-722, *Saccharomyces cerevisiae* Y-1155, а также штамм дрожжеподобных грибов *Saccharomycopsis fibuligera* Y-310. Выбранные продуценты способны ферментировать субстраты, содержащие в своем составе целлюлозу и гемицеллюлозы, при минимальном образовании побочных продуктов.

Активация штаммов осуществлялась в течение 24 ч на полной дрожжевой среде следующего состава, г/л: глюкоза – 20, пептон – 10, дрожжевой экстракт – 5.

Питательной средой для биосинтеза белка являлась пивная дробина, полученная при производстве светлого пива на АО «Форштадтская пивоварня» (г. Барнаул, Россия). В опытных питательных средах перед культивированием в течение 6 ч при температуре 50 ± 1 °C проводился ферментализация с использованием мультиэнзимной композиции, разработанной с применением методов математического моделирования [19, 20]. Контролем служили субстраты, состоящие из измельченной пивной дробины и воды в соотношении 1:5 без внесения мультиэнзимной композиции. Питательные среды стерилизовали при 121 °C в течение 30 мин до обработки ферментами.

Продуценты вносили в питательные среды в количестве 3% инокулята от объема питательной среды. Титр клеток в начале засева питательных сред составил 2×10^6 КОЕ/см³.

Культивирование осуществляли в колбах Эрленмейера объемом 500 мл в режиме непрерывного перемешивания на шейкер-инкубаторе Ecotron в течение 3 сут. при температуре 28 ± 1 °C и частоте встряхивания 110 об/мин. При снижении представленного оптимума частоты встряхивания отмечалось замедление процессов жизнедеятельности в клетках дрожжей и дрожжеподобных грибов, а при увеличении происходил синтез побочных продуктов, которые негативно влияли на белоксинтетическую активность микроорганизмов.

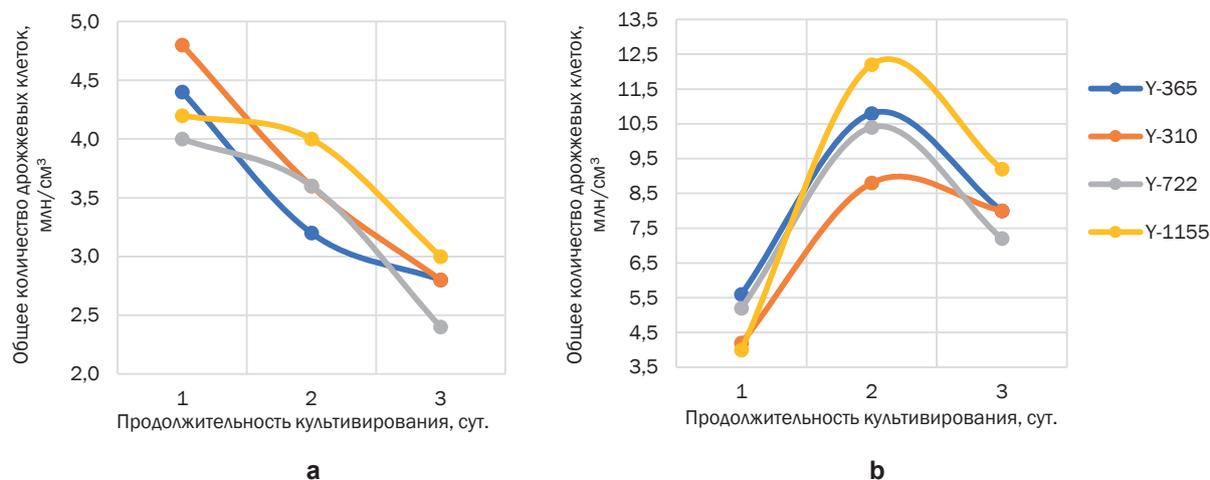
Концентрация редуцирующих сахаров определялась перманганатным методом Бертрана, общее содержание белка в средах – методом Лоури. Для определения общего количества дрожжевых клеток использовали метод прямого подсчета в камере Горяева.

Экспериментальные данные были получены в трехкратной повторности с расчетом среднего значения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На рисунке приведена динамика изменения численности клеток исследуемых штаммов дрожжей и дрожжеподобных грибов в процессе культивирования.

В ходе исследования было обнаружено, что при культивировании на контрольном субстрате максимальный прирост клеток достигается на первые сутки штаммом дрожжеподобных грибов *S. fibuligera* Y-310, он составляет 4,8 млн/см³. Далее происходит постепенное снижение количества клеток у всех штаммов, что может быть связано с низким содержанием редуцирующих веществ



Прирост численности дрожжей в процессе культивирования на пивной дробине без использования мультиэнзимной композиции (а) и на ферментативном гидролизате (б)

Yeast population increase in brewer's spent grain culture without the use of a multienzyme composition (a) and on enzymatic hydrolysate (b)

на момент внесения инокулята (1,5 г/дм³) и отсутствием дополнительных биогенных элементов.

Во всех опытных образцах в первые сутки культивирования количество клеток практически не отличалось от контроля. Тем не менее на вторые сутки наблюдался прирост титра клеток в среднем в 2,5–3,0 раза, максимума в 12,2 млн/см³ он достиг у штамма *S. cerevisiae* Y-1155. Дальнейшее истощение питательной среды, накопление продуктов метаболизма и падение активности многих внутриклеточных ферментов на третьи сутки, вероятно, способствовало разобщению энергетического и конструктивного обмена веществ и обусловило стадию затухания роста дрожжевых клеток, а именно снижение их количества и преавтолиз. Кроме того, на процесс метаболизма дрожжей в данный период, видимо, оказала влияние реакция среды, а именно снижение pH субстрата с 5,5 до 4,0, что привело к ингибированию роста и размножения клеток ионами водорода.

В ходе эксперимента также анализировались показатели эффективности биоконверсии редуцирующих сахаров и накопление белка на вторые сутки культивирования на ферментализате изучаемых продуцентов (таблица). Эффективность конверсии редуцирующих

сахаров рассчитывалась как отношение утилизированных редуцирующих сахаров к их общему содержанию, выраженное в процентах.

Согласно данным, представленным в таблице, максимальная эффективность биоконверсии редуцирующих сахаров 78,6% отмечается при культивировании штамма *S. cerevisiae* Y-365 на ферментализате пивной дробины, что на 18,6% превышает данный показатель при его культивировании на субстрате пивной дробины без использования мультиэнзимной композиции. Остальные штаммы микроорганизмов также продемонстрировали более высокую эффективность биоконверсии редуцирующих сахаров при выращивании на ферментативном гидролизате.

При культивировании изучаемых продуцентов на контрольном субстрате биосинтез белка либо полностью отсутствовал (*S. cerevisiae* Y-722, *S. fibuligera* Y-310), либо был незначительным – на 2 мг% выше начальной концентрации (*S. cerevisiae* Y-365, *S. cerevisiae* Y-722). В то же время при культивировании на ферментализате пивной дробины во всех образцах конечная концентрация белка возрастала в среднем в 9,6–10,5 раза. При этом максимальный прирост белка в 10,5 раза отмечался при использовании штамма *S. cerevisiae* Y-365.

Показатели эффективности биоконверсии редуцирующих сахаров и биосинтез белка в процессе культивирования
Indicators of bioconversion of reducing sugars and protein biosynthesis in the culture process

Продуцент	Пивная дробина				Ферментативный гидролизат			
	Y-365	Y-310	Y-722	Y-1155	Y-365	Y-310	Y-722	Y-1155
Редуцирующие вещества								
Начальная концентрация, г/дм ³	1,5				4,2			
Конечная концентрация, г/дм ³	0,6	0,5	0,5	0,6	0,9	1,3	1,2	1,1
Эффективность биоконверсии, %	60,0	66,7	66,7	60,0	78,6	69,1	71,4	73,8
Белок								
Начальная концентрация, мг%	4,0				30,0			
Конечная концентрация, мг%	6,0	4,0	4,0	6,0	315,0	287,5	287,5	295,0

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что ферментативной гидролизат пивной дробины является более благоприятной средой для культивирования изучаемых штаммов дрожжей и дрожжеподобных грибов в отличие от ее аналога, не

подвергнутого ферментативной обработке. Установлено, что наилучшие показатели эффективности биоконверсии редуцирующих сахаров (78,6%) и биосинтеза кормового белка обеспечивает штамм дрожжей *S. cerevisiae* Y-365, способствующий увеличению концентрации белка на вторые сутки до 315 мг%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Bonifácio-Lopes T., Vilas-Boas A., Machado M., Costa E.M., Silva S., Pereira R.N., et al. Exploring the bioactive potential of brewers spent grain ohmic extracts // *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2022. Vol. 76. P. 102943. DOI: 10.1016/j.ifset.2022.102943.
2. Castro L.E.N., Colpini L.M.S. All-around characterization of brewers' spent grain // *European Food Research and Technology*. 2021. Vol. 247. P. 3013–3021. DOI: 10.1007/s00217-021-03860-5.
3. Данильченко А.С., Сиюхов Х.Р., Короткова Т.Г., Хачатуров В.Н. Физико-химические показатели сырой пивной дробины // *Новые технологии*. 2020. Т. 16. N 6. С. 28–36. DOI: 10.47370/2072-0920-2020-16-6-28-36. EDN: TZCSTQ.
4. Плиева З.А., Калабеков А.Л. Химический состав пивной дробины // *Известия Горского государственного аграрного университета*. 2011. Т. 48. N 2. С. 274–276. EDN: OPRSEB.
5. Плиева З.А., Цугкиев Б.Г. Химический состав пивной дробины // *Известия Горского государственного аграрного университета*. 2012. Т. 49. N 4. С. 376–379. EDN: PJWCON.
6. Плиева З.А., Хозиев А.М. Минеральный состав пивной дробины // *Известия Горского государственного аграрного университета*. 2014. Т. 51. N 3. С. 331–333. EDN: SNUMRT.
7. Akermann A., Weiermüller J., Chodorski N.J., Nestriepke M.J., Baclig M.T., Ulber R. Optimization of bio-processes with Brewers' spent grain and *Cellulomonas uda* // *Engineering in Life Sciences*. 2022. Vol. 22, no. 3-4. P. 132–151. DOI: 10.1002/elsc.202100053.
8. Zeng J., Sheng F., Hu X., Huang Z., Tian X., Wu Z. Nutrition promotion of brewer's spent grain by symbiotic fermentation adding *Bacillus velezensis* and *Levilactobacillus brevis* // *Food Bioscience*. 2022. Vol. 49. P. 101941. DOI: 10.1016/j.fbio.2022.101941.
9. Zeng J., Huang W., Tian X., Hu X., Wu Z. Brewer's spent grain fermentation improves its soluble sugar and protein as well as enzymatic activities using *Bacillus velezensis* // *Process Biochemistry*. 2021. Vol. 111. P. 12–20. DOI: 10.1016/j.procbio.2021.10.016.
10. Castilla-Archilla J., Thorn C.E., Pau S., Lens P.N.L. Screening for suitable mixed microbial consortia from anaerobic sludge and animal dungs for biodegradation of brewery spent grain // *Biomass and Bioenergy*. 2022. Vol. 159. P. 106396. DOI: 10.1016/j.biombioe.2022.106396.
11. Плиева З.А., Цугкиев Б.Г., Хозиев А.М. Культивирование дрожжей на кислотном гидролизате пивной

дробины // *Известия Горского государственного аграрного университета*. 2015. Т. 52. N 4. С. 411–416. EDN: UZBVWF.

12. Хозиев А.М., Плиева З.А. Размножение дрожжей на питательной среде, приготовленной на основе пивной дробины // *Известия Горского государственного аграрного университета*. 2014. Т. 51. N 3. С. 344–349. EDN: SNUMSX.

13. Bianco A., Budroni M., Zara S., Mannazzu I., Fancello F., Zara G. The role of microorganisms on bio-transformation of brewers' spent grain // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020. Vol. 104. P. 8661–8678. DOI: 10.1007/s00253-020-10843-1.

14. Фазлиев И.И., Минзанова С.Т., Ахмадулина Ф.Ю., Миронова Л.Г. Ферментативный гидролиз пивной дробины // *Экология и промышленность России*. 2012. N 8. С. 20–22. EDN: PBQCOL.

15. Петухова Н.И., Щербакоева Д.В., Шараева А.А., Зорин В.В. Синтез полиненасыщенных жирных кислот грибом *Mortierella alpina* гр-1 при культивировании на пивной дробине // *Башкирский химический журнал*. 2014. Т. 21. N 4. С. 90–96. EDN: TGDIZD.

16. Грибкова И.Н., Харламова Л.Н., Севостьянова В.М., Лазарева И.В., Захаров М.А., Борисенко О.А. Анализ возможностей извлечения органических соединений пивной дробины различными способами // *Техника и технология пищевых производств*. 2022. Т. 52. N 3. С. 469–489. DOI: 10.21603/2074-9414-2022-3-2383. EDN: VLWIRO.

17. Кожемякин Д.С., Каменская Е.П. Анализ способов гидролиза пивной дробины // *Ползуновский альманах*. 2023. N 2-2. С. 23–25. EDN: AXUUG.

18. Кобелев К.В., Гернет М.В., Грибкова И.Н. Разработка инновационного способа получения биологически активных соединений пивной дробины // *Техника и технология пищевых производств*. 2021. Т. 51. N 1. С. 113–124. DOI: 10.21603/2074-9414-2021-1-113-124. EDN: AXBBIN.

19. Вистовская В.П., Каменская Е.П., Кожемякин Д.С., Дикалова Е.С. Разработка мультиэнзимной композиции для гидролиза пивной дробины с применением методов математического моделирования // *Ползуновский вестник*. 2023. N 3. С. 134–141. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.03.018. EDN: KSGYGV.

20. Касаткина А.Н., Градова Н.Б., Удалова Э.В. Использование мультиэнзимных композиций для деструкции пивной дробины // *Биотехнология*. 2008. N 2. С. 59–64. EDN: JVVQCF.

REFERENCES

1. Bonifácio-Lopes T., Vilas-Boas A., Machado M., Costa E.M., Silva S., Pereira R.N., et al. Exploring the bioactive potential of brewers spent grain ohmic extracts. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2022;76:102943. DOI: 10.1016/j.ifset.2022.102943.

2. Castro L.E.N., Colpini L.M.S. All-around characterization of brewers' spent grain. *European Food Research and Technology*. 2021;247:3013-3021. DOI: 10.1007/s00217-021-03860-5.

3. Danilchenko A.S., Siyukhov Kh.R., Korotkova T.G., Khachaturov V.N. Physical and chemical indicators of raw

spent grain. *New technologies*. 2020;16(6):28-36. (In Russian). DOI: 10.47370/2072-0920-2020-16-6-28-36. EDN: TZCSTQ.

4. Plieva Z.A., Kalabekov A.L. Chemical composition of brewer's grain. *News of the Gorsky State Agrarian University*. 2011;48(2):274-276. (In Russian). EDN: OPRSEB.

5. Plieva Z.A., Tsugkiev B.G. Chemical composition of brewer's grain. *News of the Gorsky State Agrarian University*. 2012;49(4):376-379. (In Russian). EDN: PJWCOH.

6. Plieva Z.A., Khoziev A.M. Mineral composition of beer pellet. *News of the Gorsky State Agrarian University*. 2014;51(3):331-333. (In Russian). EDN: SNUMRT.

7. Akermann A., Weiermüller J., Chodorski N.J., Nestriepke M.J., Baclig M.T., Ulber R. Optimization of bioprocesses with Brewers' spent grain and *Cellulomonas uda*. *Engineering in Life Sciences*. 2022;22(3-4):132-151. DOI: 10.1002/elsc.202100053.

8. Zeng J., Sheng F., Hu X., Huang Z., Tian X., Wu Z. Nutrition promotion of brewer's spent grain by symbiotic fermentation adding *Bacillus velezensis* and *Levilactobacillus brevis*. *Food Bioscience*. 2022;49:101941. DOI: 10.1016/j.fbio.2022.101941.

9. Zeng J., Huang W., Tian X., Hu X., Wu Z. Brewer's spent grain fermentation improves its soluble sugar and protein as well as enzymatic activities using *Bacillus velezensis*. *Process Biochemistry*. 2021;111:12-20. DOI: 10.1016/j.procbio.2021.10.016.

10. Castilla-Archilla J., Thorn C.E., Pau S., Lens P.N.L. Screening for suitable mixed microbial consortia from anaerobic sludge and animal dungs for biodegradation of brewery spent grain. *Biomass and Bioenergy*. 2022;159:106396. DOI: 10.1016/j.biombioe.2022.106396.

11. Plieva Z.A., Tsugkiev B.G., Khoziev A.M. Cultivation of yeast on acid hydrolysate of brewer's grains. *News of the Gorsky State Agrarian University*. 2015;52(4):411-416. (In Russian). EDN: UZBVWF.

12. Khoziev A.M., Plieva Z.A. Reproduction of yeasts on nutrient medium prepared on the basis of beer pellet. *News*

of the Gorsky State Agrarian University. 2014;51(3):344-349. (In Russian). EDN: SNUMSX.

13. Bianco A., Budroni M., Zara S., Mannazzu I., Fancello F., Zara G. The role of microorganisms on biotransformation of brewers' spent grain. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020;104:8661-8678. DOI: 10.1007/s00253-020-10843-1.

14. Fazliyev I.I., Minzanova S.T., Akhmadullina F.Yu., Mironova L.G. Enzymatic hydrolysis of spent grains. *Ecology and Industry of Russia*. 2012;8:20-22. (In Russian). EDN: PBQCOL.

15. Petukhova N.I., Shcherbakova D.V., Sharaeva A.A., Zorin V.V. Synthesis of polyunsaturated fatty acids by fungus *Mortierella alpina* gr-1 while culturing on brewer's spent grain. *Bashkir Chemical Journal*. 2014;21(4):90-96. (In Russian). EDN: TGDIZD.

16. Gribkova I.N., Kharlamova L.N., Sevostianova E.M., Lazareva I.V., Zakharov M.A., Borisenko O.A. Extracting organic compounds from brewer's spent grain by various methods. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022;52(3):469-489. (In Russian). DOI: 10.21603/2074-9414-2022-3-2383. EDN: VLWIRO.

17. Kozhemyakin D.S., Kamenskaya E.P. Analysis of methods of brewer's spent grain hydrolysis. *Polzunovskii al'manakh*. 2023;2-2:23-25. (In Russian). EDN: AXXUUG.

18. Kobelev K.V., Gernet M.V., Gribkova I.N. Innovative method for obtaining biologically active compounds from brewery mash. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(1):113-124. (In Russian). DOI: 10.21603/2074-9414-2021-1-113-124. EDN: AXBBIN.

19. Vistovskaya V.P., Kamenskaya E.P., Kozhemyakin D.S., Dikalova E.S. Development of a multienzymatic composition for brewer's spent grain hydrolysis through use of mathematical modeling methods. *Polzunovskiy vestnik*. 2023;3:134-141. (In Russian). DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.03.018. EDN: KSGYGV.

20. Kasatkina A.N., Gradova N.B., Udalova E.V. The use of multienzyme composition for destruction of brewer's grains. *Biotehnologiya*. 2008;2:59-65. (In Russian). EDN: JVVQCF.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Кожемякин Денис Сергеевич,

магистрант,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 46,
Российская Федерация,
✉ denkzm1998@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0007-4051-569X>

Каменская Елена Петровна,

к.б.н., доцент,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 46,
Российская Федерация,
ekam2007@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3760-6914>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Denis S. Kozhemyakin,

Master's Student,
Polzunov Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
✉ denkzm1998@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0007-4051-569X>

Elena P. Kamenskaya,

Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Polzunov Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
ekam2007@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3760-6914>

Вистовская Виктория Петровна,
к.т.н., доцент,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 46,
Российская Федерация,
vpvist@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0000-0606-4599>

Viktoria P. Vistovskaya,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Polzunov Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
vpvist@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0000-0606-4599>

Вклад авторов

Д.С. Кожемякин – проведение исследования, курирование данных, формальный анализ, валидация результатов, написание черновика рукописи.
Е.П. Каменская – разработка концепции, валидация результатов, редактирование рукописи.
В.П. Вистовская – разработка методологии, валидация результатов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 18.07.2024.
Одобрена после рецензирования 06.10.2024.
Принята к публикации 31.05.2025.

Contribution of the authors

Denis S. Kozhemyakin – investigation, data curation, formal analysis, validation, writing – original draft.
Elena P. Kamenskaya – conceptualization, validation, editing.
Viktoria P. Vistovskaya – methodology, validation.

Conflict of interest

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 18.07.2024.
Approved after reviewing 06.10.2024.
Accepted for publication 31.05.2025.

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: ЕГПНИ «Белый список», 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 (VAK). The Journal also is indexing in Unified State Index of Scientific Publications "White list", 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 15 N 3 (54) 2025

12+

**PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
APPLIED CHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY**

Volume 15 N 3 (54) 2025

Редактор Ф.А. Посысоева

Перевод на английский язык:

Dusan Stocis (PhD), Anastasia Stosic (PhD), A.B. Квеглис,
А.Н. Овешкова (к.филол.н.), Е.А. Привалова (к.х.н.)

Верстка Т.С. Жевлаковой

Дата выхода в свет 30.09.2025. Формат 60 x 90 / 8.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Усл. печ. л. 19,5
Тираж 500 экз. Зак. 84. Поз. плана 5н.

Отпечатано в типографии издательства
ФГБОУ ВО «ИРНИТУ»

Адрес типографии:

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

Издание распространяется бесплатно

ФГБОУ ВО «ИРНИТУ»,

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