

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ

ИРКУТСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
Прикладная химия
и биотехнология

Том 16 N 1 (56) 2026



ИЗДАТЕЛЬСТВО
Иркутского национального исследовательского
технического университета



ИЗВЕСТИЯ ВУЗОВ
ПРИКЛАДНАЯ ХИМИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ
Том 16 N 1 (56) 2026

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. Эммануэля 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 углехимии и химического материаловедения Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН (Кемерово, Россия)

Липин А.А. д.т.н., доцент, заведующий кафедрой процессов и аппаратов химической технологии Ивановского государственного химико-технологического университета (Иваново, 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 (Бабола, 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)

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 16 No. 1 (56) 2026**

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. Zhrebtsov

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)

Andrey A. Lipin

Dr. Sci. (Engineering), Associate Professor, Head of the Department of Processes and Apparatuses of Chemical Engineering, Ivanovo State University of Chemistry and Technology (Ivanovo, 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)

Barnasan Purevsuren

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)

Panda Sanjib Kumar

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)

Vitaliy V. Khutoryanskiy

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

Olga M. Tsvileva

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

Соков С.А., Голованов А.А., Борисова Ю.Г., Раскильдина Г.З., Султанова Р.М., Злотский С.А. Получение, реакции и применение солей глицидилтриметиламмония (обзор).....	6
Лебедева О.В., Раскулова Т.В., Сипкина Е.И., Шакиртов А.М., Шаглаева Н.С., Коваль Е.Т., Данилова А.С., Прокофьев А.И., Кузнецова Н.П., Прозорова Г.Ф. Синтез и характеристика новых протоннообменных мембран на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфоокислоты.....	16

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г. Использование гидрогелей на основе поливинилового спирта для регенеративной медицины и тканевой инженерии.....	30
Гришкова А.В., Стурова Ю.Г., Коваль А.Д., Мусина О.Н. Биохимические свойства мококосвертывающих ферментов отечественного производства.....	40
Капустина И.С., Гурина В.В., Спиридонова Е.В., Озолина Н.В., Липчанская Т.В., Третьякова А.В. Определение степени упорядоченности липидов микромонов хлоропластов листьев пшеницы в условиях почвенной засухи.....	52
Копицын Д.С., Оболенский В.Н., Доронина О.А., Римашевский Д.В., Оснач С.А., Тоузаков Ф.С., Кичесов М.С., Винокуров В.А. Гибридные материалы на основе полиметилметакрилата и природных биополимеров как основа для повышения качества костных цементов.....	61
Крыжко А.В. Выявление целлюлозолитической активности штаммов энтомопатогенной бактерии <i>Bacillus thuringiensis</i>	72
Мусина О.Н., Захарова А.С., Конева С.И. Проектирование состава композитной обогащенной мучной смеси и изучение ее свойств.....	82
Позднякова А.В., Муруева А.В., Шершнева А.М., Шабанов А.В., Шишацкая Е.И. Влияние способа получения и депонирования гемостатического препарата на физико-химические свойства биополимерных микрочастиц.....	92
Стариков С.Н., Шарипов Д.А., Четвериков С.П. Бактериальная ассоциация <i>Bacillus</i> sp. МХЗ и <i>Ensifer adhaerens</i> М1 для эффективной деструкции перфторалкильных соединений.....	101
Шибеева А.С., Глаголева Е.В., Джавахия В.В., Воинова Т.М., Ядерец В.В. Повышение активности штамма <i>Amycolatopsis orientalis</i> – продуцента антибиотика эремомидина и изучение его антибактериальной активности.....	112
Щербакова Ю.В., Ахмадулина Ф.Ю., Сироткин А.С. <i>Escherichia coli</i> – перспективный биотест-объект для оценки качества молочного сырья при его термообработке.....	123

ХИМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Давыдов В.О., Коровченко П.А., Заикин М.А., Древко Я.Б. Перспективы отечественной технологии производства биокеросина.....	133
Крылов А.В., Шестаков К.В., Лазарев С.И., Хорохорина И.В. Электрокинетические характеристики электродиализной очистки цинкосодержащих растворов от ионов цинка, железа и натрия.....	143

CONTENTS

CHEMICAL SCIENCES

- Sokov S.A., Golovanov A.A., Borisova Yu.G., Raskildina G.Z., Sultanova R.M., Zlotskiy S.S.** Preparation, reactions, and application of glycidyltrimethylammonium salts: a review (In Russ.)..... 6
- Lebedeva O.V., Raskulova T.V., Sipkina E.I., Shakirtov A.M., Shaglaeva N.S., Koval E.T., Danilova A.S., Prokofev A.I., Kuznetsova N.P., Prozorova G.F.** Synthesis and characterization of novel proton-exchange membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridinesulfonic acid (In Russ.)..... 16

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

- Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A., Shurygin M.G.** Application of polyvinyl alcohol hydrogels in regenerative medicine and tissue engineering (In Russ.)..... 30
- Grishkova A.V., Sturova Yu.G., Koval A.D., Musina O.N.** Biochemical properties of Russian milk-clotting enzymes (In Russ.)..... 40
- Kapustina I.S., Gurina V.V., Spiridonova E.V., Ozolina N.V., Lipchanskaya T.V., Tret'yakova A.V.** Determination of lipid ordering in chloroplast microdomains of wheat leaves under soil drought conditions (In Russ.)..... 52
- Kopitsyn D.S., Obolensky V.N., Doronina O.A., Rimashevsky D.V., Osnach S.A., Touzakov F.S., Kichesov M.S., Vinokurov V.A.** Hybrid materials based on polymethyl methacrylate and natural biopolymers for improving the performance of bone cements (In Russ.)..... 61
- Kryzhko A.V.** Cellulolytic activity of strains of the entomopathogenic bacterium *Bacillus thuringiensis* (In Russ.).. 72
- Musina O.N., Zakharova A.S., Koneva S.I.** Formulation and functional properties of an enriched composite flour blend (In Russ.)..... 82
- Pozdniakova A.V., Murueva A.V., Shershneva A.M., Shabanov A.V., Shishatskaya E.I.** Impact of hemostatic agent preparation and deposition methods on the physicochemical properties of biopolymer microparticles (In Russ.)..... 92
- Starikov S.N., Sharipov D.A., Chetverikov S.P.** Bacterial consortium of *Bacillus* sp. MX3 and *Ensifer adhaerens* M1 for efficient degradation of perfluoroalkyl compounds (In Russ.)..... 101
- Shibaeva A.S., Glagoleva E.V., Dzhavakhiya V.V., Voinova T.M., Yaderets V.V.** Enhancing the activity of *Amycolatopsis orientalis*, a producer of antibiotic eremomycin, and study of its antibacterial action..... 112
- Shcherbakova Yu.V., Akhmadullina F.Yu., Sirotkin A.S.** *Escherichia coli* as a promising bioassay organism for monitoring milk quality during heat treatment (In Russ.)..... 123

CHEMICAL TECHNOLOGY

- Davydov V.O., Korovchenko P.A., Zaikin M.A., Drevko Ya.B.** Prospects for the Russian technology of biokerosene production (In Russ.)..... 133
- Krilov A.V., Shestakov K.V., Lazarev S.I., Khorokhorina I.V.** Electrokinetic characteristics of electrodialysis purification of zinc-containing solutions from zinc, iron, and sodium ions (In Russ.)..... 143



Получение, реакции и применение солей глицидилтриметиламмония (обзор)

С.А. Соков, А.А. Голованов, Ю.Г. Борисова[✉],
Г.З. Раскильдина, Р.М. Султанова, С.А. Злотский

Уфимский государственный нефтяной технический университет, Уфа, Российская Федерация

Аннотация. Настоящий обзор ставит целью систематизацию и анализ научных данных, опубликованных за последние 50 лет, касающихся методов синтеза, химических превращений и практического применения солей глицидилтриметиламмония, которые являются перспективными катионными поверхностно-активными веществами. В статье детально рассмотрены два основных способа получения солей глицидилтриметиламмония: реакция триметиламина с эпихлоргидрином или эпибромгидрином и обработка 3-хлоро-2-гидроксипропилтриметиламмония щелочью. Наиболее распространенным является первый метод, обеспечивающий высокие выход и чистоту продукта, но требующий низких температур для минимизации побочных процессов. Основное внимание уделено реакционной способности эпоксидного цикла, который легко раскрывается под действием различных нуклеофилов: спиртов, карбоновых кислот, тиолов и аминов. Это позволяет синтезировать широкий спектр функционализированных соединений, в частности сложные эфиры с жирными кислотами, модифицированные углеводы (крахмал, целлюлозу) и другие производные. Продукты на основе солей глицидилтриметиламмония находят широкое применение благодаря введению катионного фрагмента, придающего поверхностно-активные свойства. Они добавляются в качестве эффективных компонентов в моющие средствах и косметику, применяются для создания антимикробных покрытий за счет координации наночастиц металлов, а также используются в нефтехимической отрасли в качестве экологичных стабилизаторов буровых растворов. Таким образом, соли глицидилтриметиламмония представляют собой универсальные и высокореакционноспособные промежуточные соединения для получения функциональных материалов в различных отраслях промышленности.

Ключевые слова: глицидилтриметиламмоний, четвертичные аммонийные соли, эпихлоргидрин, поверхностно-активные вещества, буровой раствор, эпоксида

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России в сфере научной деятельности, номер для публикаций FEUR – 2025-0001 «Нефтехимические реагенты, добавки и материалы».

Для цитирования: Соков С.А., Голованов А.А., Борисова Ю.Г., Раскильдина Г.З., Султанова Р.М., Злотский С.А. Получение, реакции и применение солей глицидилтриметиламмония (обзор) // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 6–15. DOI: 10.21285/achb.1025. EDN: QCZKPN.

CHEMICAL SCIENCES

Review article

Preparation, reactions, and application of glycidyltrimethylammonium salts: a review

Sergey A. Sokov, Alexander A. Golovanov, Yulianna G. Borisova[✉],
Gulnara Z. Raskildina, Rimma M. Sultanova, Semon S. Zlotsky

Ufa State Petroleum Technological University, Ufa, Russian Federation

Abstract. The present review aims to generalize and analyze the scientific data published over the past 50 years about the methods of synthesis, chemical transformations, and practical application of glycidyltrimethylammonium salts,

which are promising cationic surfactants. The article discusses in detail the two main methods for the preparation of glycidyltrimethylammonium salts: reaction of trimethylamine with epichlorohydrin or epibromohydrin and treatment of 3-chloro-2-hydroxypropyl trimethylammonium with alkali. Although the most common first method provides the high yield and purity of the product, low temperatures are required for minimizing side processes. The main attention is paid to the reactivity of the epoxy cycle, which is easily revealed by the action of various nucleophiles: alcohols, carboxylic acids, thiols, and amines. Thus, a wide range of functionalized compounds can be synthesized, in particular esters with fatty acids, modified carbohydrates (starch, cellulose), and other derivatives. Products based on glycidyltrimethylammonium salts find a wide utility due to the introduction of a cationic fragment that imparts surfactant properties. These products are used as coordinators of metal nanoparticles in antimicrobial coatings, effective components in detergents and cosmetics, as well as environmentally friendly stabilizers of drilling fluids in the petrochemical industry. Thus, glycidyltrimethylammonium salts are versatile, high-reactive intermediates for the production of functional materials in various industries.

Keywords: glycidyltrimethylammonium, quaternary ammonium salts, epichlorohydrin, surfactants, drilling fluid, epoxides

Funding. The Ministry of Science and Education of the Russian Federation financially supported this work within the framework of the state assignment in the field of scientific activity (publication no. FEUR – 2025-0001 “Petrochemical reagents, additives and materials”).

For citation: Sokov S.A., Golovanov A.A., Borisova Yu.G., Raskildina G.Z., Sultanova R.M., Zlotskiy S.S. Preparation, reactions, and application of glycidyltrimethylammonium salts: a review. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):6-15. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1025. EDN: QCZKPN.

ВВЕДЕНИЕ

Катионные поверхностно-активные вещества, имеющие в структуре гидрофильный и гидрофобный сегменты, широко применяются как смягчители тканей, ингибиторы коррозии, биоциды, вспомогательные вещества для текстиля и т.д. [1–5].

Одними из наиболее перспективных в ряду катионных поверхностно-активных веществ являются соли глицидилтриметиламмония **1a,b** (рис. 1).

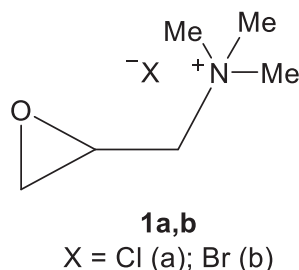


Рис. 1. Соли глицидилтриметиламмония

Fig. 1. Glycidyltrimethylammonium salts

Рассматриваемые в обзоре галогениды глицидилтриметиламмония **1a,b** являются важными промежуточными продуктами для синтеза биоразлагаемых сложноэфирных катионных поверхностно-активных веществ. Малая

токсичность их водных растворов и низкая скорость биodeградации [6] позволяет применять соли глицидилтриметиламмония для получения ион-проводящих полимеров [7], материалов для водоочистки [8], водорастворимых полимеров [9], антимикробных покрытий [10, 11], каталитически активных материалов [12] и др.

В представленном обзоре суммированы и систематизированы данные по получению и реакциям солей глицидилтриметиламмония, в основном за последние 20 лет, представленные в научных статьях. Патентная и техническая литература приведена выборочно, исходя из научной значимости предлагаемых превращений. Основное внимание уделяется химическим превращениям соединений **1a,b**, протекающим с сохранением катионного центра. В опубликованных ранее материалах [13, 14], посвященных четвертичным аммонийным солям, свойства галогенидов глицидилтриметиламмония подробно не рассматривались.

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ СОЛЕЙ ГЛИЦИДИЛТРИМЕТИЛАММОНИЯ

Известно два способа получения целевых солей глицидилтриметиламмония: реакция триметиламина с эпихлоргидрином (эпибромгидрином) и обработка 3-хлоро-2-гидроксипропилтриметиламмония щелочным раствором.

Традиционным способом получения хлорида (бромид) глицидилтриметиламмония (рис. 2) является реакция

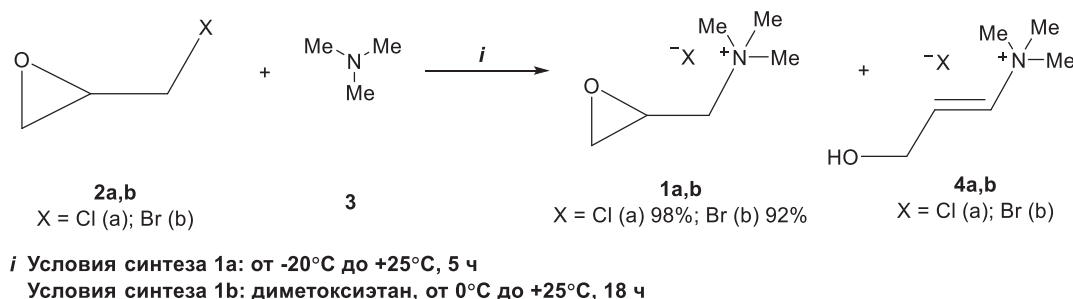


Рис. 2. Способ получения солей глицидилтриметиламмония

Fig. 2. Method for obtaining glycidyltrimethylammonium salts

между эпихлоргидрином (эпибромгидрином) и триметиламином без растворителя и катализатора [15–17]. Такой подход позволяет выделять целевой продукт с высоким выходом (до 98%) и чистотой (до 99%). Главным недостатком процесса является необходимость проводить реакцию при температуре минус 20 °С с целью получения чистого кристаллического продукта. По причине большей доступности эпихлоргидрина в подавляющем большинстве работ рассматривается получение и дальнейшее применение именно хлорида глицидилтриметиламмония.

В ряде работ предлагается использование катализаторов [18], растворителей [19, 20], ультразвука [21] для оптимизации процесса. Использование иодида калия в качестве катализатора позволяет проводить реакцию при комнатной температуре, однако приводит к снижению выхода целевого продукта до 87% [18].

Сообщалось [15], что существует возможность проведения синтеза солей без растворителя. Отмечается, что в случае отсутствия растворителя лучшими условиями будет соотношение эпихлоргидрина и триметиламина 3:1.

В то же время в ряде работ [17, 19–21] описано влияние на процесс полярных и неполярных раствори-

телей (таблица). Отметим, что температура в приведенных примерах варьируется от комнатной до температуры кипения растворителя.

Как видно из приведенных данных, увеличение полярности растворителя приводит к повышению конверсии исходного эпихлоргидрина **2a**. В неполярных растворителях, например в *n*-гексане, наблюдается низкая конверсия исходного соединения, что в совокупности с большой продолжительностью реакции делает использование подобных растворителей неэффективным. В полярных протонных растворителях (например, этиловом спирте) имеет место образование преимущественно побочного продукта – 3-гидрокси-1-пропенилтриметиламмония хлорида **4a** (см. рис. 2). Увеличение количества триметиламина, наличие значительного количества воды или окислителей [17] вызывают протекание побочных реакций (рис. 3).

Коммерчески доступный продукт **1a** содержит хлорид 3-хлоргидроксипропилтриметиламмония (< 4,0%), хлорид 2,3-дигидроксипропилтриметиламмония (< 3,5%) и некоторые другие соединения (например, следы эпихлоргидрина) в качестве примесей¹.

Альтернативным способом получения хлорида глицидилтриметиламмония является обработка хлорида

Влияние природы растворителя на выход хлорида глицидилтриметиламмония

Effect of the solvent nature on the glycidyltrimethylammonium chloride yield

Растворитель	Дипольный момент, D	Время реакции, ч	Температура проведения реакции, °С	Конверсия эпихлоргидрина 3a , %	Выход продукта 1a , %	Выход побочного продукта 4a , %
Ацетон	2,8	35	25	74	97	следы
Тетрагидрофуран	1,9	60	25	60	95	следы
Диметоксиэтан	1,4	60	25	56	97	следы
Диэтиловый эфир	1,2	60	25	40	97	следы
Этилацетат	1,8	35	77	40	67	<5
<i>n</i> -Гексан	0,0	60	69	15	98	следы
Этанол	1,7	15	78	95	20	80
Тетрахлорметан	0,0	30	25	30	76	<5

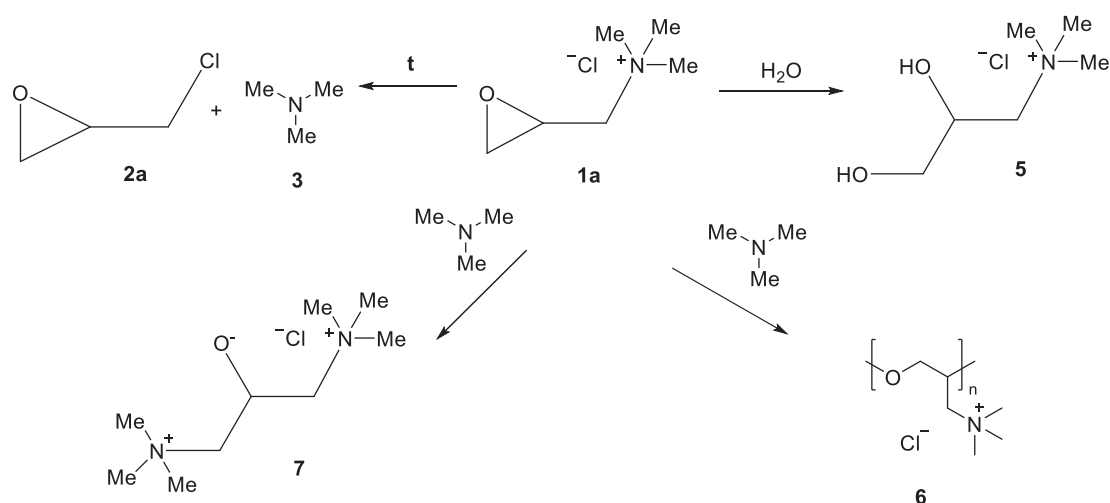


Рис. 3. Побочные реакции при синтезе глицидилтриметиламмония

Fig. 3. Side-reactions on glycidyltrimethylammonium synthesis

¹2,3-epoxypropyltrimethylammonium chloride: European union risk assessment report // Echa.europa.eu. Режим доступа: <https://echa.europa.eu/documents/10162/ad2b9958-d74b-42cf-9cb1-521f017737e1> (дата обращения: 14.01.2026).

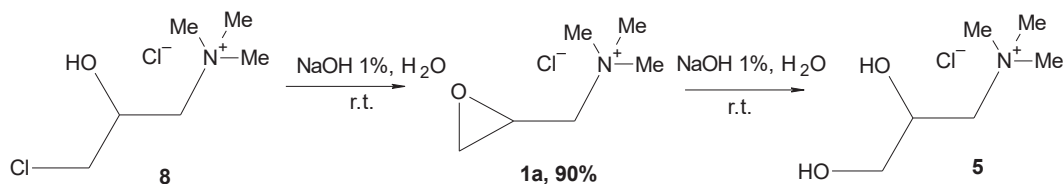


Рис. 4. Получение хлорида глицидилтриметиламмония в щелочной среде

Fig. 4. Synthesis of chloride glycidyltrimethylammonium in base medium

3-хлор-2-гидроксипропилтриметиламмония **8** водным раствором щелочи [22–25]. Помимо целевого продукта **1a** при этом может образовываться диол **5** в результате раскрытия цикла. Чаще всего представленный способ применяется для генерации эпоксидного цикла *in situ*, например при обработке тканей [25] (рис. 4).

Таким образом, в литературе описано два основных пути синтеза солей глицидилтриметиламмония, более применимым является метод, основанный на использовании коммерчески доступных эпихлоргидрина (эпибромгидрина) и триметиламина.

РЕАКЦИИ И ПРИМЕНЕНИЕ СОЛЕЙ ГЛИЦИДИЛТРИМЕТИЛАММОНИЯ

Реакционная способность солей глицидилтриметиламмония в основном обуславливается наличием эпоксидного цикла, который может легко раскрываться под действием разнообразных нуклеофильных агентов. Четвертичный аммонийный фрагмент солей глицидилтриметиламмония в описанных в литературе примерах в превращениях не участвует.

С О-нуклеофилами реакция протекает в довольно мягких условиях, с образованием эфиров. В работах [25–27] хлорид глицидилтриметиламмония **1a** применяется для модификации различных видов углеводов, в частности инулина, целлюлозы, крахмала (рис. 5).

Реакция протекает под действием водных растворов гидроксида натрия при температурах 40–80 °C и при длительной обработке реакционной массы (свыше 6 ч). Получаемые соединения **10** обладают хорошей водорас-

творимостью и поверхностной активностью, что позволяет применять их в качестве поверхностно-активных веществ. Важно отметить, что в приведенном примере возможно протекание процесса в щелочной среде с отщеплением аммонийного фрагмента и дальнейшим раскрытием и полимеризацией оксиранового кольца [24].

Сходным образом хлорид глицидилтриметиламмония **1a** реагирует с карбоновыми кислотами и их производными, образуя сложные эфиры, как описано в работах [28–30]. Реакция протекает при нагреве в диапазоне 45–85 °C в полярных растворителях (ацетон, вода, изопропанол) и приводит к соответствующим сложным эфирам с выходами 87–95% в зависимости от условий и конкретной кислоты.

Наибольший интерес вызывают реакции с высшими жирными кислотами, так как они позволяют получать весьма эффективные поверхностно-активные вещества, находящие применение в промышленности и косметологии. Так, в результате реакции стеариновой кислоты **11** с хлоридом глицидилтриметиламмония **1a** при температуре 70 °C в течение 4 ч образуется эфир **12** с выходом 95% (рис. 6).

Реакция с производным фосфорной кислоты, например с додецил дигидрофосфатом **13**, протекает аналогичным образом [31]. При этом образуются бетаиновые структуры **14** с выходом 93% в водной среде при температуре 60 °C (рис. 7).

Добавление акриловой кислоты **15** к соли **1a** и трифенилфосфину в атмосфере азота при температуре 80 °C в течение 4 ч приводит к соответствующему непредельному эфиру **16** с выходом 90% [32] (рис. 8).

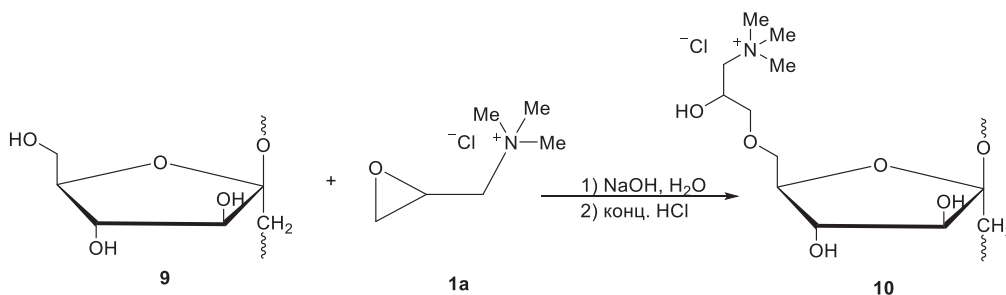


Рис. 5. Модификация углеводов с помощью глицидилтриметиламмония

Fig. 5. Carbohydrates modification via glycidyltrimethylammonium

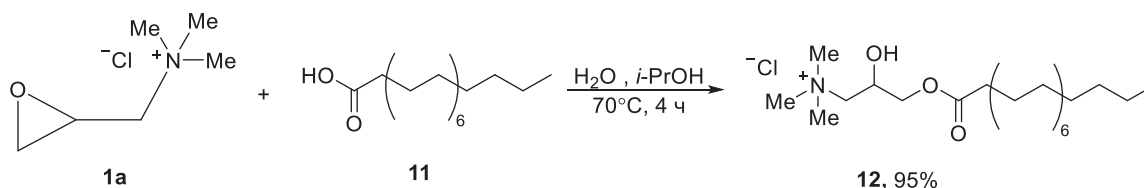


Рис. 6. Синтез поверхностно-активных веществ с использованием глицидилтриметиламмония

Fig. 6. Synthesis of surfactants via glycidyltrimethylammonium

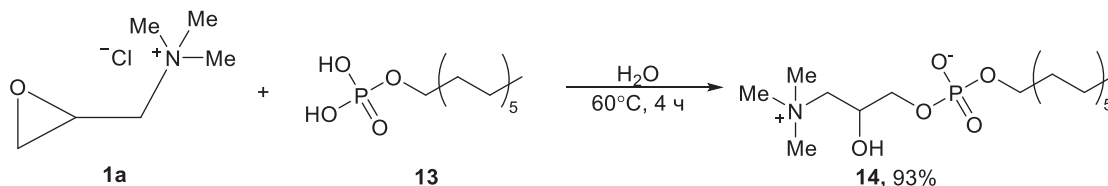


Рис. 7. Синтез бетаинов с использованием глицидилтриметиламмония

Fig. 7. Synthesis of betaines via glycidyltrimethylammonium

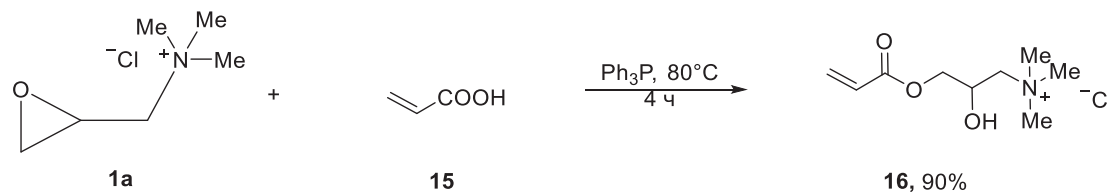


Рис. 8. Синтез непредельного эфира

Fig. 8. Synthesis of unsaturated ether

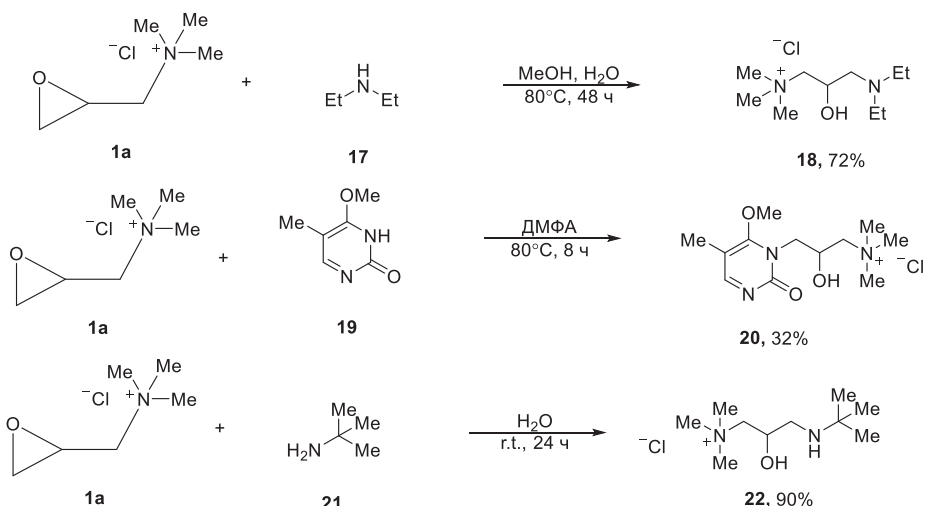


Рис. 9. Реакция с N-нуклеофилами

Fig. 9. Reactions with N-nucleophiles

С N-нуклеофилами реакция протекает региоселективно как при нагревании [33, 34], так и при комнатной температуре [35]. С диэтиламинем **17** и 5-метил-6-метокси-2(1H)-пиридин-2(1H)-оном **19** реакция проводится в полярных растворителях при повышенных температурах, а в случае трет-бутиламина **21**, несмотря на стерические эффекты, реагирует при комнатной температуре (рис. 9).

Описан синтез анионообменного сополимера воздействием хлорида глицидилтриметиламмония **1a** на аминокислотные полимеры **23** при небольшом нагревании без растворителя². Получаемые сорбенты демонстрировали значительно лучшие хроматографические характеристики, чем сорбенты с гидрофобными фрагментами (рис. 10).

Обработка продукта **1a** водным раствором ацетонциангидрина **25** при комнатной температуре (рис. 11) позволяет получить нитрильное производное карнитина **26** с выходом 84%. Эта реакция легла в основу получения

оптически чистого L-карнитина [36]. Данная реакция может быть рассмотрена как взаимодействие оксианового цикла **1a** с C-нуклеофилом – синильной кислотой, выделяющейся в результате гидролиза ацетонциангидрина.

В случае бинуклеофилов реакционная способность и направление реакции зависит от активности нуклеофильного центра, условий протекания реакции и стерической загруженности реакционного центра. Так, в случае хитозана **27** в зависимости от pH реакционной смеси реакция протекает как по $-NH_2$, так и по $-OH$ группам (рис. 12). В кислой и нейтральной среде гидроксильные группы хитозана обладают недостаточной реакционной способностью, поэтому реакция идет селективно как N-алкилирование с образованием продукта **28** с хорошими выходами. В щелочной среде реагируют обе группы, образуя продукты N- и O-алкилирования **29**³ [37, 38].

Промышленные превращения солей глицидилтриметиламмония под действием полинуклеофилов (рис. 13)

² Шукина О.И. Новые анионообменники с ковалентно привитым разветвленным гидрофильным функциональным слоем для ионной хроматографии: дис. ... канд. хим. наук: 02.00.02. М., 2015. 135 с.

³ Шагдарова Б.Ц. Получение алкилированных и ацилированных производных хитозана и исследование их биологических свойств: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.06. М., 2016. 135 с.

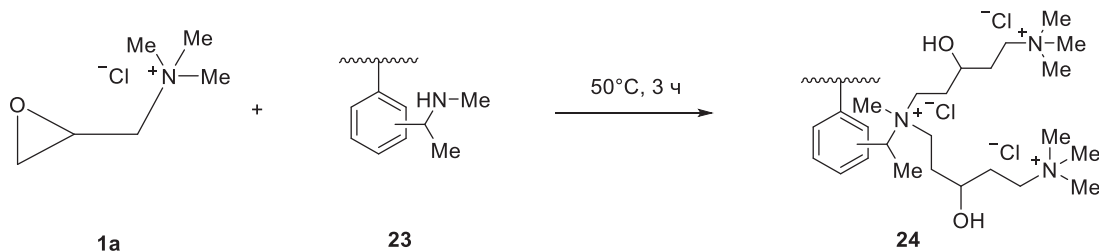


Рис. 10. Синтез полимерной структуры

Fig. 10. Glycidyltrimethylammonium application in polymer synthesis

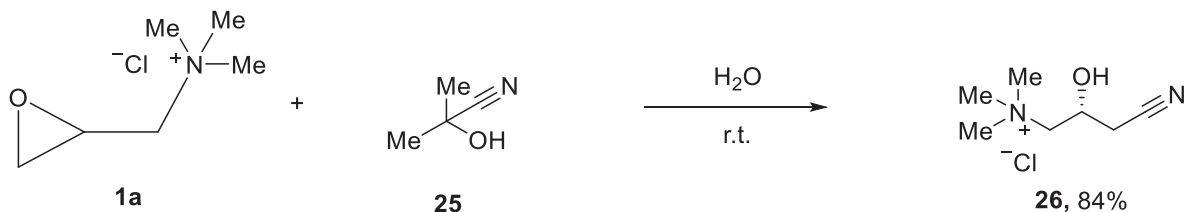


Рис. 11. Этап получения оптически чистого L-карнитина

Fig. 11. Stage of obtaining optically pure L-carnitine

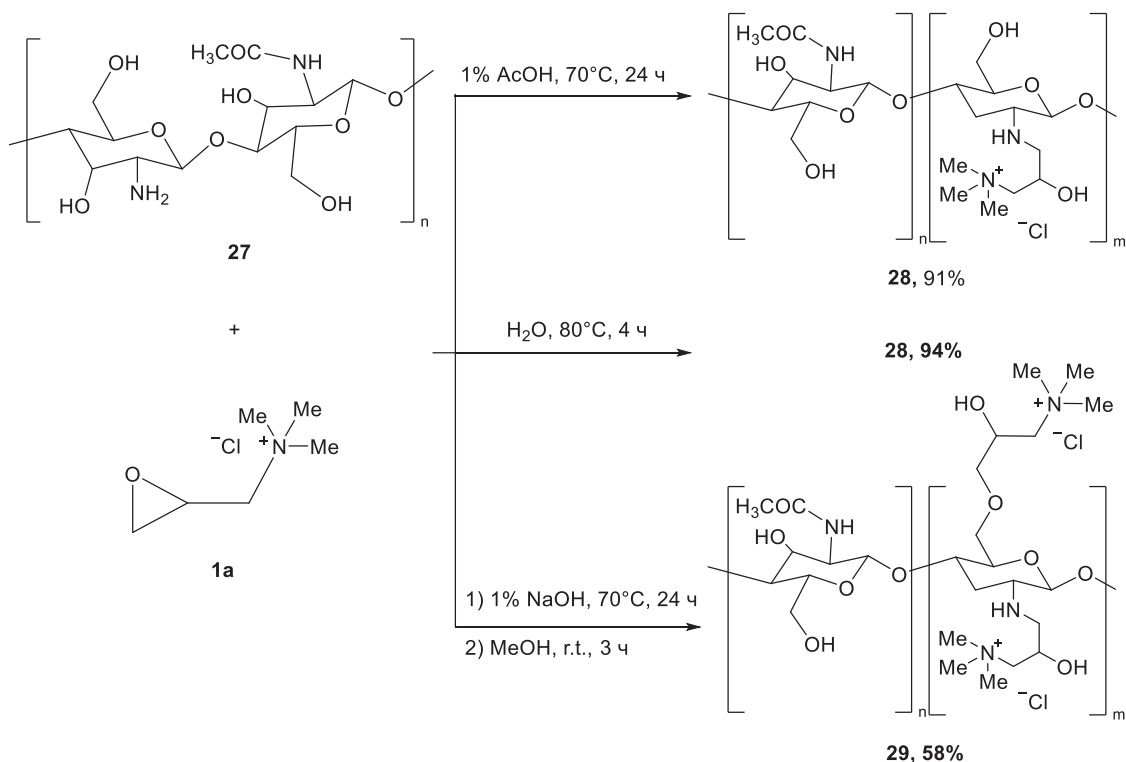


Рис. 12. Реакция с бинуклеофилами

Fig. 12. Reaction with binucleophiles

описаны в патентах [39, 40]. Реакция протекает региоселективно по SH-группе соединения **30**, при этом аминогруппа не требует дополнительных защитных групп для управления селективностью процесса.

В случае 3-((2-гидроксиэтил)амино)пропан-1-сульфоновой кислоты **32** (рис. 14), содержащей несколько реакционных центров, реакция идет селективно по NH группе, приводя к региоселективному образованию разветвленного амина **33** с 76%-м выходом [41].

Отметим, что в рассмотренных примерах соли глицидилтриметиламмония **1a,b** с точки зрения реак-

ционной способности рассматриваются как функционализированные оксираны, позволяющие вводить в молекулу четвертичный аммонийный фрагмент. Во всех случаях в продуктах превращения присутствует вторичная гидроксильная группа. Повышенная температура и длительное время реакции необходимы для достижения полной конверсии.

Большая часть областей применения продуктов на основе солей глицидилтриметиламмония связана с их высокой поверхностной активностью. Так, в работах [26, 30, 31] доказана высокая моющая способность соеди-

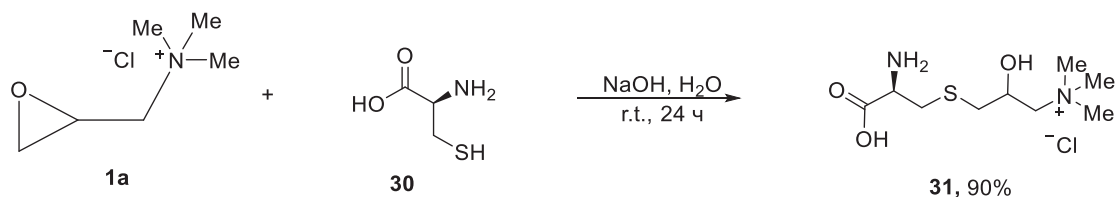


Рис. 13. Реакция с полинуклеофилами

Fig. 13. Reaction with polynucleophiles

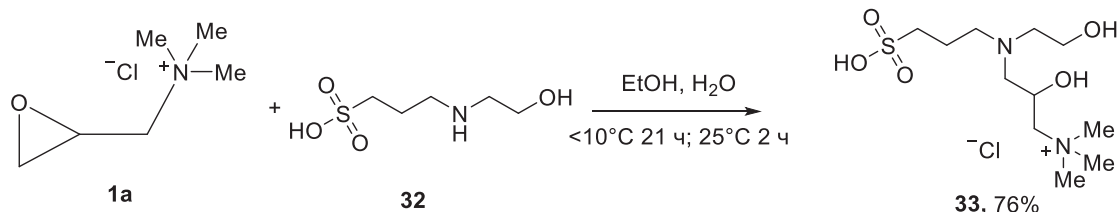


Рис. 14. Реакция с N-замещенной пропан-1-сульфоновой кислотой

Fig. 14. Reaction with N-substituted propane-1-sulfonic acid

нений типа **12**, **14** и их аналогов, что обуславливает их применение в косметической промышленности [40].

Также соли глицидилтриметиламмония находят применение при производстве новых материалов, в частности наночастиц серебра и золота [10, 11, 42, 43]. Отмечены высокие антибактериальные свойства продуктов и материалов на основе солей глицидилтриметиламмония [10, 11]. Показана возможность применения модифицированных углеводов типа **10** [25–27] в нефтепромысловой химии. В частности, указано [44–48], что подобные поликатионные структуры являются эффективными и экологически безопасными стабилизаторами буровых растворов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основным методом синтеза солей глицидилтриметиламмония является реакция эпихлоргидрина (эпибромгидрина) с триметиламином при охлаждении,

обеспечивающая высокие выход (до 98%) и чистоту (до 99%). Фактором, определяющим реакцию способность этих солей, является эпиксидный цикл, легко раскрывающийся под действием нуклеофилов.

Продукты, полученные на основе солей глицидилтриметиламмония, находят широкое применение благодаря присутствию катионного фрагмента, придающего поверхностно-активные свойства. Этим обуславливается их использование в качестве эффективных поверхностно-активных веществ в моющих средствах и косметике, а также при создании антимикробных покрытий (координация наночастиц металлов). У солей глицидилтриметиламмония имеется хороший потенциал использования в области фармации и медицинской химии. Перспективным направлением является применение катионизированных полимеров (например, крахмала, целлюлозы) в нефтепромысловой химии в качестве стабилизаторов буровых растворов.

REFERENCES

1. Han L., Zhang Y., Li H., Li L. The synthesis and surface activity of perfluoro-2, 5-dimethyl-3, 6-dioxanonanoic acid ester fluorocarbon surfactants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2009;334(1-3): 176-180. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2008.10.020.
2. Zhang Q., Gao Z., Xu F., Tai S. Effect of hydrocarbon structure of the headgroup on the thermodynamic properties of micellization of cationic gemini surfactants: an electrical conductivity study. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2012;371(1):73-81. DOI: 10.1016/j.jcis.2011.12.076.
3. Wang Q., Qiu H., Han H., Liu X., Jian S. Two-step stacking by sweeping and micelle to solvent stacking using a long chain cationic ionic liquid surfactant. *Journal of Separation Science*. 2012;35(4):589-595. DOI: 10.1002/jssc.201100759.
4. Zhu M., Chai J., Chen L., Xu L., Liu W., Shang S., et al. Synergetic effect of cationic surfactive ionic liquid C₁₂mimBr and anionic surfactant SDBS on the phase behavior and solubilization of microemulsions. *Fluid Phase Equilibria*. 2012;314:90-94. DOI: 10.1016/j.fluid.2011.10.023.
5. Diao Z., Li L., Wang Z., Lu J., Zhou W. Studies in the phase behavior of the microemulsions formed by mixed cationic and nonionic surfactants. *Colloid Journal*. 2011;73:626-634. DOI: 10.1134/S1061933X1105022X.
6. Tehrani-Bagha A.R., Holmberg K. Cationic ester-containing gemini surfactants: physical-chemical properties. *Langmuir*. 2010;26(12):9276-9282. DOI: 10.1021/la1001336.
7. Matsumoto K., Endo T. Synthesis of ion conductive networked polymers based on an ionic liquid epoxide having a quaternary ammonium salt structure. *Macromolecules*. 2009;42(13):4580-4584. DOI: 10.1021/ma900508q.
8. Wahlström R., Kalliola A., Heikkinen J., Kyllönen H., Tamminen T. Lignin cationization with glycidyltrimethylammonium chloride aiming at water purification applications. *Industrial Crops and Products*. 2017;104:188-194. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.04.026.
9. Rwei S.-P., Chen Y.-M., Lin W.-Y., Chiang W.-Y. Synthesis and rheological characterization of water-soluble glycidyltrimethylammonium-chitosan. *Marine Drugs*. 2014;12(11):5547-5562. DOI: 10.3390/md12115547.
10. Kang C., Kim S.S., Ahn D., Kim S.J., Lee J. Effective surface attachment of Ag nanoparticles on fibers using

- glycidyltrimethylammonium chloride and improvement of antimicrobial properties. *RSC Advances*. 2017;7(38):23407-23414. DOI: 10.1039/C7RA01636K.
11. Kang C., Ahn D., Roh C., Kim S.S., Lee J. Development of synergistic antimicrobial coating of p-aramid fibers using ag nanoparticles and glycidyltrimethylammonium chloride (GTAC) without the aid of a cross-linking agent. *Polymers*. 2017;9(8):357. DOI: 10.3390/polym9080357.
 12. Mukhayani F., Kamiya Y., Otomo R., Kunarti E.S., Nuryono N. Modification of chitosan-coated magnetic material with glycidyltrimethylammonium chloride and its application as heterogeneous base catalyst for levulinic acid esterification. *Materials Advances*. 2024;5(9):3838-3849. DOI: 10.1039/D4MA00181H.
 13. Zhang C., Cui F., Zeng G., Jiang M., Yang Z., Yu Z., et al. Quaternary ammonium compounds (QACs): a review on occurrence, fate and toxicity in the environment. *Science of the Total Environment*. 2015;518-519:352-362. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.03.007.
 14. Zhou Z., Zhou S., Zhang X., Zeng S., Xu Y., Nie W., et al. Quaternary ammonium salts: insights into synthesis and new directions in antibacterial applications. *Bioconjugate Chemistry*. 2023;34(2):302-325. DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.2c00598.
 15. McClure J.D. Glycidyltrimethylammonium chloride and related compounds. *The Journal of Organic Chemistry*. 1970;35(6):2059-2061. DOI: 10.1021/jo00831a093.
 16. Burness D.M. Anomalous reaction of epichlorohydrin with trimethylamine. *The Journal of Organic Chemistry*. 1964;29(7):1862-1864. DOI: 10.1021/jo01030a047.
 17. Miao Z., Wang F., Deng D. Preparation of hyperactive etherifying agent of glycidyltriethylammonium chloride. In: 2013 *International Conference on Materials for Renewable Energy and Environment*. Chengdu: IEEE; 2013, vol. 2, p. 601-603. DOI: 10.1109/ICMREE.2013.6893745.
 18. Peng F., Lin L., Fang N.-H. Study on catalytic synthesis of 2,3-epoxypropyl trimethyl ammonium chloride by using potassium iodide as catalyst. *Xiandai Huagong (Modern Chemical Industry)*. 2010;30(1):66-67.
 19. Liu J., Li Z., Huang X. Synthesis of 2,3-epoxypropyl trimethyl ammonium chloride. *Speciality Petrochemicals*. 2008;25(1):28-31.
 20. Guo N. Synthesis and characterization of cationic surfactant 3-dodecyloxy-2-hydroxypropyltrimethyl ammonium chloride (D HTAC). *Pige Yu Huagong*. 2013;30:10-13.
 21. Yang N., Zheng J. Synthesis and characterization of new etherification agent epoxypropyl trimethyl ammonium chloride (GTA) under ultrasonic conditions. *Pige Yu Huagong*. 2011;28(1):5-7.
 22. Zheng T., Zheng D., Li X., Cai C., Lou H., Liu W., et al. Synthesis of quaternized lignin and its clay-tolerance properties in montmorillonite-containing cement paste. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2017;5(9):7743-7750. DOI: 10.1021/acssuschemeng.7b01217.
 23. Pinto P.I., Magina S., Budjav E., Pinto P.C., Liebnier F., Evtuguin D. Cationization of eucalyptus kraft LignoBoost lignin: preparation, properties, and potential applications. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2022;61(10):3503-3515.
 24. Wang X., Liu Z., Wang S., Kong F., Yang G., Fatehi P., Lucia L.A. Enhancing the Alkaline Peroxide Mechanical Pulp Strength by Cationization with 3-chloro-2-hydroxypropyl trimethyl ammonium chloride. *BioResources*. 2017;12(4):244-248.
 25. Rahul R., Kumar S., Jha U., Sen G. Cationic inulin: a plant based natural biopolymer for algal biomass harvesting. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015;72:868-874. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.09.039.
 26. D'Avino M., Chilton R., Gang S., Sivik M.R., Fulton D.A. Evaluating the role of hydrophobic and cationic appendages on the laundry performance of modified hydroxyethyl celluloses. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2022;61(38):14159-14172. DOI: 10.1021/acs.iecr.2c01698.
 27. Bendoraitiene J., Kavaliauskaite R., Klimaviciute R., Zemaitaitis A. Peculiarities of starch cationization with glycidyltrimethylammonium chloride. *Starch-Stärke*. 2006;58(12):623-631. DOI: 10.1002/star.200600541.
 28. Guo N. Synthesis and characterization of N,N,N-trimethyl-2-hydroxy-3-stearoyloxy-propylammoniumchloride. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010;393(1-2):268-272.
 29. Wilke M.S., French M.A., Goh Y.K., Ryan E.A., Jones P.J., Clandinin M.T. Synthesis of specific fatty acids contributes to VLDL-triacylglycerol composition in humans with and without type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2009;52(8):1628-1637. DOI: 10.1007/s00125-009-1405-9.
 30. Yang J., Guo Y., Li H. Biodegradation of N,N,N-trimethyl-2, 3-bis (stearoyloxy)-propylammonium chloride (CDESA). *Fine Chemicals-Dalian*. 2007;24(3):287.
 31. Kurosaki T., Masuda M., Yamaki K. Synthesis and physicochemical properties of amphiphilic phosphobetaine: alkyl 2-hydroxy-3-trimethylammonioethyl phosphates (Cn-AHTMAP). *Nippon Kagaku Kaishi*. 1990;11:1297-1301.
 32. Birtane H., Şen F., Bozdağ B., Kahraman M.V. Antibacterial UV-photocured acrylic coatings containing quaternary ammonium salt. *Polymer Bulletin*. 2021;78:3577-3588. DOI: 10.1007/s00289-020-03287-0.
 33. Pomeisl K., Votruba I., Holí A., Pohl R. Syntheses of base and side-chain modified pyrimidine 1-[2-(phosphonomethoxy) propyl] derivatives as potent inhibitors of thymidine phosphorylase (PD-ECGF) from SD-lymphoma. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. 2006;71(4):595-624.
 34. Steric-hindrance amine ionic liquid and preparation thereof. Patent. CN no. 102898318; 2013.
 35. Zhang C., Li Y., Xing S., Yang X., Zhao J., Dong Q. Studies on Intermolecular Interaction of N-glycidyltrimethyl ammonium chloride modified chitosan/N,N-dimethyl-N-dodecyl-N-(2,3-epoxy propyl) ammonium chloride and curcumin delivery. *Polymers*. 2022;14(10):1936. DOI: 10.3390/polym14101936.
 36. Voeffray R., Perlberger J.-C., Tenud L., Gosteli J. L-Carnitine. Novel synthesis and determination of the optical purity. *Helvetica Chimica Acta*. 1987;70(8):2058-2064. DOI: 10.1002/hlca.19870700811.
 37. Gruškieienė R., Deveikytė R., Makuška R. Quaternization of chitosan and partial destruction of the quaternized derivatives making them suitable for electrospinning. *Chemija*. 2013;24(4):455-459. DOI: 10.6001/chemija.2013.24.4.10.
 38. Lim S.H., Hudson S.M. Synthesis and antimicrobial activity of a water-soluble chitosan derivative with a fiber-reactive group // *Carbohydrate Research*. 2004. Vol. 339, no. 2. P. 313-319. DOI: 10.1016/j.carres.2003.10.024.
 39. Phenolic hydroxyl ionic water-based polyamide imide containing reactive groups and preparation method thereof. Patent CN no. 115260495; 2022.

40. Buffer compounds. Patent US no. 20120129240; 2012.

41. Self-emulsifying ionic water-based polyamide imide and preparation method thereof, carbon fiber sizing agent and preparation method and application thereof. Patent CN no. 114561011; 2022.

42. Lu C., Zhang Y.-Y., Zhu X.-F., Yang G.-W., Wu G.-P. Simultaneous activation of carbon dioxide and epoxides to produce cyclic carbonates by cross-linked epoxy resin organocatalysts. *ChemCatChem*. 2023;15(10):e202300360. DOI: 10.1002/cctc.202300360.

43. Malviya R., Sharma P.K., Dubey S.K. Modification of polysaccharides: pharmaceutical and tissue engineering applications with commercial utility (patents). *Materials Science and Engineering: C*. 2016;68:929-938. DOI: 10.1016/j.msec.2016.06.093.

44. Lee S., Lee J. Antibacterial coating of glass fiber filters with silver nanoparticles (AgNPs) and glycidyltri-

thylammonium chloride (GTAC). *Fibers and Polymers*. 2018;19:2080-2087. DOI: 10.1007/s12221-018-8107-1.

45. Lee S., Sul I.H., Lee J. Attachment of silver nanoparticles to the wool fiber using glycidyltrimethylammonium chloride (GTAC). *Textile Coloration and Finishing*. 2016;28(2):70-76. DOI: 10.5764/TCF.2016.28.2.70.

46. Dos Santos Cescon L., Quartarone P., da Silva Ribeiro S.P., Veiga Nascimento R.S. Cationic starch derivatives as reactive shale inhibitors for water-based drilling fluids. *Journal of Applied Polymer Science*. 2018;135(33):46621.

47. Warren B., van der Horst P., Stewart W. Application of amphoteric cellulose ethers in drilling fluids. In: *SPE International Conference on Oilfield Chemistry*. SPE; 2003, p. 1-11. DOI: 10.2118/80210-MS.

48. Fan Y., Picchioni F. Modification of starch: a review on the application of "green" solvents and controlled functionalization. *Carbohydrate Polymers*. 2020;241:116350. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.116350.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Соков Сергей Александрович,

к.х.н., младший научный сотрудник,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
s.a.sokov.tltsu@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-0639-0455>

Голованов Александр Александрович,

д.х.н., главный научный сотрудник,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
aleksandgolovanov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8592-3984>

Борисова Юлианна Геннадьевна,

к.х.н., доцент,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
✉ yulianna_borisova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6452-9454>

Раскильдина Гульнара Зинуровна,

д.х.н., профессор, профессор,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
graskildina444@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9770-5434>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Sergey A. Sokov,

Cand. Sci. (Chemistry), Junior Researcher,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov St., Ufa, 450064,
Russian Federation,
s.a.sokov.tltsu@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-0639-0455>

Alexander A. Golovanov,

Dr. Sci. (Chemistry), Chief Researcher,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov St., Ufa, 450064,
Russian Federation,
aleksandgolovanov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8592-3984>

Yulianna G. Borisova,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov St., Ufa, 450064,
Russian Federation,
✉ yulianna_borisova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6452-9454>

Gulnara Z. Raskildina,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Professor,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov St., Ufa, 450064,
Russian Federation,
graskildina444@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9770-5434>

Султанова Римма Марсельевна,

д.х.н., профессор, профессор,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
rimmams@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6719-2359>

Rimma M. Sultanova,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Professor,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov St., Ufa, 450064,
Russian Federation,
rimmams@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6719-2359>

Злотский Семен Соломонович,

д.х.н., профессор, заведующий кафедрой,
Уфимский государственный нефтяной
технический университет,
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
Российская Федерация,
nocturne@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6365-5010>

Semon S. Zlotsky,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Head of the Department,
Ufa State Petroleum Technological University,
1, Kosmonavtov St., Ufa, 450064,
Russian Federation,
nocturne@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6365-5010>

Вклад авторов

С.А. Соков – проведение исследования.
А.А. Голованов – формальный анализ.
Ю.Г. Борисова – редактирование рукописи.
Г.З. Раскильдина – административное
руководство исследовательским проектом,
предоставление ресурсов.
Р.М. Султанова – написание
черновика рукописи.
С.С. Злотский – разработка концепции,
разработка методологии, курирование данных.

Contribution of the authors

Sergey A. Sokov – investigation.
Alexander A. Golovanov – formal analysis.
Yulianna G. Borisova – editing.
Gulnara Z. Raskildina – project administration,
resources.
Rimma M. Sultanova – writing – original draft.
Semon S. Zlotsky – conceptualization,
methodology, data curation.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

Conflict of interest

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

*Все авторы прочитали и одобрили
Окончательный вариант рукописи.*

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

Информация о статье

Поступила в редакцию 14.07.2025.
Одобрена после рецензирования 08.12.2025.
Принята к публикации 05.03.2026.

Information about the article

*The article was submitted 14.07.2025.
Approved after reviewing 08.12.2025.
Accepted for publication 05.03.2026.*



Синтез и характеристика новых протонообменных мембран на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты

О.В. Лебедева^{*✉}, Т.В. Раскулова^{**}, Е.И. Сипкина^{*}, А.М. Шакиртов^{*},
Н.С. Шаглаева^{*}, Е.Т. Коваль^{*}, А.С. Данилова^{*}, А.И. Прокофьев^{*},
Н.П. Кузнецова^{***}, Г.Ф. Прозорова^{***}

^{*}Иркутский национальный исследовательский технический университет, Иркутск, Российская Федерация

^{**}Ангарский государственный технический университет, Ангарск, Российская Федерация

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

Аннотация. Целью настоящей работы являлось впервые проведенное получение и комплексное исследование кислотно-основных ионообменных мембран на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола, пиридинсульфокислоты и поливинилового спирта, сшитого щавелевой кислотой. В ходе работы установлена прямая зависимость ключевых физико-химических свойств материала от соотношения полимерных компонентов. Полученные образцы мембран проявляют высокую термическую и окислительную стабильность. Показано, что термическая стабильность мембран увеличивается с ростом содержания поли-1-винил-1,2,4-триазола, достигая температур начала деструкции в 340 °С, при этом они демонстрируют высокую устойчивость к окислительной деградации в агрессивной среде реактива Фентона. Мембраны теряют вес с увеличением времени, через 5 ч потери веса для поли-1-винил-1,2,4-триазола с пиридинсульфокислотой (20:80), (50:50), (80:20) и мембраны Нафийон 212[®] составляли 25, 21, 14 и 5% соответственно. Функциональные характеристики, такие как водопоглощение, ионообменная емкость и протонная проводимость, напротив, существенно возрастают при повышении доли пиридинсульфокислоты. Максимальная удельная электропроводность материала в условиях 80 °С и относительной влажности 75% достигает 250 мСм/см. Изучение механических свойств показало, что увеличение содержания пиридинсульфокислоты в составе приводит к повышению эластичности (относительное удлинение при разрыве возрастает до 54%) и снижению модуля упругости (до 50 МПа). Полученные результаты показывают возможность целенаправленного конструирования и настройки свойств данных мембран до значений, превышающих показатели коммерческой мембраны Нафийон 212[®], что определяет перспективность их применения в качестве протонообменных материалов в электрохимических устройствах, включая топливные элементы.

Ключевые слова: ионообменные мембраны, поли-1-винил-1,2,4-триазол, пиридинсульфокислота, поливиниловый спирт, протонная проводимость, морфология

Для цитирования: Лебедева О.В., Раскулова Т.В., Сипкина Е.И., Шакиртов А.М., Шаглаева Н.С., Коваль Е.Т. [и др.]. Синтез и характеристика новых протонообменных мембран на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 16–29. DOI: 10.21285/achb.1023. EDN: XXODLB.

Synthesis and characterization of novel proton-exchange membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridinesulfonic acid

Oksana V. Lebedeva*✉, Tatyana V. Raskulova**, Evgenya I. Sipkina*, Alexey M. Shakirtov*, Nina S. Shaglaeva*, Elizaveta T. Koval*, Arina S. Danilova*, Alexander I. Prokofev*, Nadezhda P. Kuznetsova***, Galina F. Prozorova***

*Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, Russian Federation

**Angarsk State Technical University, Angarsk, Russian Federation

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

Abstract. In this work, acid-base ion-exchange membranes based on poly(1-vinyl-1,2,4-triazole), pyridinesulfonic acid, and polyvinyl alcohol cross-linked with oxalic acid were fabricated and characterized for the first time. A direct relationship between the key physicochemical properties of the membranes and the ratio of polymer components is established. The obtained materials exhibit high thermal and oxidative stability. Their thermal stability was shown to increase with an increase in the poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) content, with degradation onset temperatures reaching 340 °C. The membranes also demonstrate high resistance to oxidative degradation in the aggressive environment of Fenton's reagent. Over time, a gradual weight loss is observed. Thus, following 5 h, the weight losses for poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) with pyridinesulfonic acid (20:80), (50:50), (80:20) and the Nafion 212® membrane were 25, 21, 14, and 5%, respectively. Conversely, functional characteristics – such as water absorption, ion-exchange capacity, and proton conductivity – increased significantly with an increase in the content of pyridinesulfonic acid. The maximum specific electrical conductivity of the material reached 250 mS/cm at 80 °C and a relative humidity of 75%. In terms of mechanical properties, an increase in the content of pyridine sulfonic acid leads to an increase in elasticity (elongation at break increases to 54%) and a decrease in elastic modulus (to 50 MPa). These results demonstrate the feasibility of targeted design and property tuning of these membranes to achieve performance exceeding that of the commercial Nafion 212® membrane, making them promising candidates for use as proton-exchange materials in electrochemical devices, including fuel cells.

Keywords: ion-exchange membranes, poly-1-vinyl-1,2,4-triazole, pyridinesulfonic acid, polyvinyl alcohol, proton conductivity, morphology

For citation: Lebedeva O.V., Raskulova T.V., Sipkina E.I., Shakirtov A.M., Shaglaeva N.S., Koval E.T., et al. Synthesis and characterization of novel proton-exchange membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridinesulfonic acid. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):16-29. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1023. EDN: XXODLB.

ВВЕДЕНИЕ

Постепенное истощение природных ресурсов и рост цен на природные энергоносители стимулируют разработку альтернативных источников электроэнергии. Одним из передовых направлений зеленой энергетики являются топливные элементы, преобразующие энергию химических связей в электрическую. Высокая энергоэффективность, отсутствие вредных воздействий на окружающую среду и компактность делают топливные элементы востребованными во всех областях науки и техники, в том числе для развития энергетики.

Эффективность работы топливного элемента определяется ионообменной мембраной, которая обеспечивает перенос зарядов из анодной области в катодную. Для получения ионообменных мембран широко используются синтетические полимерные материалы на основе перфторированной сульфокислоты типа Nafion (США), Flemion

(Япония), Aciplex-S (Япония) [1–6]. Подобные мембраны, несмотря на высокую стоимость и сложность синтеза, находят широкое коммерческое распространение в силу их высокой протонной проводимости и химической стабильности. В ходе эксплуатации сульфокислотных мембран были выявлены некоторые проблемы, связанные с выделением токсичных промежуточных соединений, потерей стабильности и ионной проводимости при температурах выше 100 °C и т.д.

Наиболее промышленным подходом к получению кислотно-основных ионообменных мембран является формирование комплексов путем смешивания поликислоты и полиоснования [7–11]. Для обеспечения высоких механических и эксплуатационных характеристик мембран смешение исходных компонентов осуществляют в присутствии различных сшивающих агентов, что приводит к формированию трехмерной

структуры мембраны. Среди полиоснований высокий потенциал для формирования мембран демонстрируют азотсодержащие гетероциклические полимеры. Они характеризуются высокой термической стабильностью и способностью поддерживать необходимую протонную проводимость в среднем температурном интервале от 100 до 250 °C [12]. При этом протонная проводимость мембран на их основе обеспечивается переносом протонов по механизму Гроттуса за счет образования большого количества водородных связей между атомами азота гетероциклических фрагментов и молекулами воды [13].

Для формирования мембран типа кислота–основание на основе азотсодержащих гетероциклических полимеров наиболее распространенным подходом является допирование минеральными кислотами (H_2SO_4 или H_3PO_4). Основной эксплуатационной проблемой, возникающей у допированных мембран, является постепенное вымывание кислоты из структуры полимерной матрицы. Это связано с тем, что молекулы допанта (кислоты) связаны с азотсодержащими группами полимера только водородными связями, которые достаточно легко распадаются в процессе работы мембранно-электродного блока. Свободная кислота, образующаяся в ходе распада водородных связей, обеспечивает высокую удельную электропроводность мембран [14]. При этом с повышением рабочей температуры наблюдается рост удельной электропроводности за счет увеличения радиуса внутренних проводящих каналов в мембранах [15], но одновременно увеличивается скорость разрыва водородных связей между молекулами кислоты и азотсодержащими группировками полимеров и уменьшаются проводящие свойства мембран.

Поли-1-винил-1,2,4-триазол – это перспективный полимер основного типа, обладающий широким спектром практически значимых свойств [16]. На его основе получают композитные гидрогели [17], функциональные покрытия [18], фотолюминисцентные комплексы [19], антибактериальные нанокомпозиты [20, 21] и кислотно-основные ионообменные мембраны [17]. Согласно данным литературных источников [22–27], применение ряда кислотных допантов (поли-1-винил-1,2,4-триазол/ортофосфорная кислота, полистиролсульфокислота, поливинилфосфоновая кислота и др.) обеспечивает формирование протонпроводящих полимерных мембран с удельной электропроводностью порядка 10^{-3} ... 10^{-2} См/см. Этот диапазон значений проводимости делает данные материалы пригодными для использования в твердополимерных топливных элементах и иных электрохимических устройствах.

В рамках представленной работы нами были получены и изучены ионпроводящие мембраны по типу кислота – основание на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола (ПВТ) и пиридинсульфокислоты (ПСК). Эти мембраны получены и охарактеризованы нами впервые. Предлагаемый способ получения мембран является одностадийным, осуществляется при низкой температуре, атмосферном давлении. Этот способ позволяет получать кислотно-основные мембраны с хорошей протонной проводимостью, достаточной химической и термической стабильностью, а также механической прочностью.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве исходных реагентов использовали: 1-винил-1,2,4-триазол (ВТ), ПСК, поливиниловый спирт (ПВС), щавелевую кислоту (ЩК), а также динитрил азобисизомасляной кислоты (ДАК) в качестве инициатора радикальной полимеризации ВТ. Исходный ВТ был синтезирован по методике [28]. Остальные соединения являлись коммерческими продуктами Sigma-Aldrich и были использованы без предварительной обработки. В качестве растворителя применяли диметилсульфоксид, который очищали по стандартной методике [29].

Радикальная полимеризация 1-винил-1,2,4-триазола в диметилсульфоксиде (70 °C, инициатор ДАК, 1 масс.%) позволила получить полимер ПВТ с выходом 94% [30].

Мембраны ПВТ–ПСК были получены следующим образом: в трехгорлую колбу помещали раствор исходных реагентов (ПВТ и ПСК) в дистиллированной воде в различных мольных соотношениях. Колба была снабжена обратным холодильником Аллина и механической мешалкой. При включенной мешалке (частота вращения 300 об/мин) в колбу добавляли водные растворы поливинилового спирта и щавелевой кислоты заданной концентрации. Массовое соотношение (ПВТ–ПСК):ПВС:ЩК составляло 1,0:1,0:0,5. Колбы с реакционной массой помещали в термостат, где выдерживали в течение 1 ч при температуре 70 ± 2 °C при постоянном перемешивании. По окончании процесса образовывался гомогенный вязкий раствор, который использовали для дальнейшего формирования мембран. Мембраны получали методом полива, в качестве подложки применяли лавсановые пленки. Сформированные на подложках мембраны сушили на воздухе в течение 12 ч, окончательную сушку осуществляли в сушильном шкафу при температуре 80 °C, время термической сушки составляло 30 мин.

Элементный анализ исходного ПВТ и мембран проводили на газоанализаторе Thermo Finnigan Flash EA 1112 Series. Инфракрасные (ИК) спектры с преобразованием Фурье для мембран регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре Varian 3100. Термогравиметрические измерения осуществляли на анализаторе STA 449 F1 Jupiter (Netzsch, Германия). Условия эксперимента: атмосфера воздуха, скорость нагрева 5 °C/мин, масса навески 7 мг.

Ионообменная емкость (ИОЕ) мембран была охарактеризована методом обратного титрования по стандартной методике: после предварительного выдерживания мембран в растворе гидроксида натрия в течение 24 ч (концентрация 0,05 моль/л) проводили титрование раствором соляной кислоты (концентрация 0,05 моль/л). Точку эквивалентности определяли в присутствии фенолфталеина.

Структуру поверхности мембран ПВТ–ПСК анализировали методом СЭМ на приборе Philips-525-M.

Измерение удельной электропроводности мембран на основе ПВТ–ПСК проводили методом импедансной спектроскопии в симметричных электрохимических ячейках типа С/мембрана/С. Эксперименты выполнены в интервале температур 30–80 °C при относительной влажности 75% с использованием потенциостата-гальваностата PARSTAT 2273 (Princeton Applied Research, США) в диапазоне частот 500–5000 Гц.

Гидродинамический диаметр частиц образцов определяли методом динамического светорассеяния (прибор ZetaPALS). Измерения проводили при 25 °С, угол детектирования рассеянного света составлял 90°.

Для характеристики деформационно-прочностных свойств мембран ПВТ–ПСК была использована универсальная испытательная машина AGS-X (Shimadzu, Япония). Для проведения испытаний готовили прямоугольные образцы мембран (размер 25×60 мм), которые перед анализом выдерживали в течение 24 ч при температуре 23 °С на воздухе (относительная влажность воздуха составляла 50%). Скорость движения зажима в ходе испытаний была 1 мм/мин. Деформационно-прочностные характеристики мембран, включая модуль упругости, прочность на разрыв и относительное удлинение, определяли с использованием специализированного программного обеспечения.

Для оценки характеристик мембран в условиях имитирующих работу топливного элемента, применяли испытательную ячейку ElectroChem (США) и потенциостат-гальваностат П-30С («Элинс», Россия). Измерения вольтамперных зависимостей проводили при 25 °С, с подачей увлажненного водорода и воздуха.

Определение водопоглощения мембран включало стандартную последовательность операций: образцы выдерживали в сушильном шкафу при температуре 50±3 °С в течение 24 ч, затем они были охлаждены в присутствии осушителя и взвешены с точностью до 0,001 г. Далее образцы мембран автономно размещали в круглодонной колбе с дистиллированной водой, снабженной обратным холодильником «Аллина», таким образом, чтобы они были полностью покрыты водой. Колбу помещали в термостат и выдерживали при различных температурах (от 30 до 80 °С) в течение 24 ч. Затем образцы мембран извлекали из воды, высушивали фильтровальной бумагой и взвешивали на аналитических весах с точностью не менее 0,001 г. Водопоглощение W рассчитывали по формуле $W = (m_1 - m) / m \times 100$, где m – масса высушенного образца; m_1 – масса образца после контакта с водой. В качестве конечного результата определения использовали среднее арифметическое, рассчитанное по значениям водопоглощения мембраны в трех независимых экспериментах.

Для оценки количества молекул воды, связанных с одной сульфокислотной группой допанта, по значениям показателя водопоглощения была рассчитана величина λ по формуле: $\lambda = W / 18 \times \text{ИОЕ}$, где 18 – молекулярная масса воды.

Окислительная стабильность мембран ПВТ–ПСК была определена по стандартной методике с использованием реактива Фентона (3%-й раствор H_2O_2 , содержащий 4 мг/л раствора FeSO_4). Обработка мембран реактивом Фентона осуществлялась при температуре 80 °С до начала их разрушения. Для оценки показателя анализировали время разрушения образца и его остаточную массу после контакта [31].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Процесс получения кислотно-основных мембран заключался в смешивании водных растворов ПВТ и ПСК, поскольку оба этих твердых вещества белого цвета обладают высокой растворимостью в полярных раство-

рителях, таких как вода, диметилформамид, диметилсульфоксид и диметилацетамид. Мембраны ПВТ–ПСК синтезировали в следующих мольных соотношениях в исходной смеси: 20:80, 50:50, 80:20 (табл. 1).

Таблица 1. Состав кислотно-основных комплексов поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты

Table 1. Composition of acid-base complexes of poly-1-vinyl-1,2,4-triazoles and pyridine sulfonic acids

Мембрана	N, %	S, %	ПВТ, мол.%	ПВС, мол.%
ПВТ–ПСК 20:80	4,21	17,67	18,9	81,1
ПВТ–ПСК 50:50	4,47	11,30	56,7	43,3
ПВТ–ПСК 80:20	10,68	6,78	77,7	22,3

Механизм взаимодействия ПВТ и ПСК основан на кислотно-основных взаимодействиях: триазольная группа ПВТ, проявляющая основные свойства, выступает акцептором для сульфогруппы ПСК, что ведет к образованию комплекса. Результаты динамического светорассеяния указывают на однородность образующихся макромолекулярных клубков комплекса ПВТ–ПСК, о чем говорит унимодальный характер кривой распределения их гидродинамических диаметров (рис. 1). Исходный же раствор ПВТ характеризуется присутствием отдельных глобул со средним гидродинамическим диаметром 414 нм, что было подтверждено методом фотон-корреляционной спектроскопии (см. рис. 1; табл. 2).

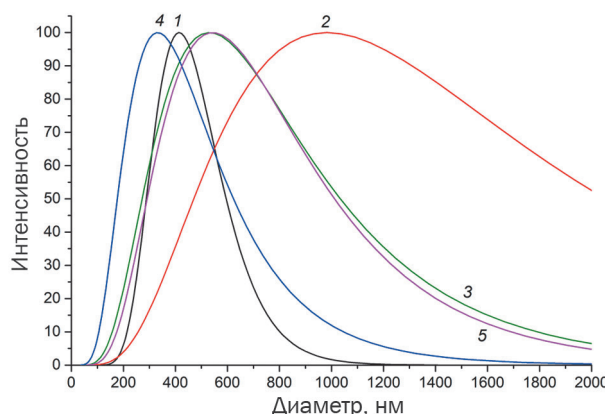


Рис. 1. Распределение гидродинамических диаметров в системе поли-1-винил-1,2,4-триазол – пиридинсульфокислота: 1 – поли-1-винил-1,2,4-триазол; 2 – пиридинсульфокислота; 3–5 – комплексы при соотношениях поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты 20:80, 50:50 и 80:20 соответственно

Fig. 1. Distribution of hydrodynamic diameters in the poly-1-vinyl-1,2,4-triazole – pyridine sulfonic acid system: 1 – poly-1-vinyl-1,2,4-triazole; 2 – pyridine sulfonic acid; 3-5 – complexes at ratios of poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridine sulfonic acids 20:80, 50:50 and 80:20 accordingly

Таблица 2. Значения гидродинамических радиусов

Table 2. Values of hydrodynamic radii

Мембрана	Гидродинамический диаметр, нм	Полидисперсность
ПВТ	414	0,20
ПСК	983	0,48
ПВТ-ПСК (20:80)	530	0,38
ПВТ-ПСК (50:50)	332	0,33
ПВТ-ПСК (80:20)	543	0,32

Анализ экспериментальных данных демонстрирует прямую зависимость размера частиц комплексов ПВТ-ПСК от их стехиометрического состава. Максимальное уменьшение среднего гидродинамического диаметра наблюдается при эквимольном соотношении компонентов (50:50), где он сокращается в 1,25 раза по сравнению с чистым ПВТ. Отклонение от стехиометрии в сторону избытка одного из компонентов (до 80%) приводит к росту размера частиц; так, при соотношении 80:20 диаметр возрастает в среднем в 1,29 раза относительно ПВТ (см. табл. 2). Отдельно стоит отметить, что молекулы ПСК в растворе характеризуются значительно большим гидродинамическим диаметром, чем ПВТ. Это указывает на выраженную склонность молекул кислоты к ассоциации. Кроме того, все синтезированные комплексы обладают более высокой полидисперсностью, чем исходный ПВТ. Данный параметр коррелирует с составом смеси, достигая максимального значения (0,38) при увеличении доли ПСК в системе (см. табл. 2).

Выявленная зависимость размеров макромолекулярных комплексов от соотношения исходных реагентов может быть объяснена межмолекулярными взаимодействиями между ними. При четырехкратном молярном избытке ПВТ основное количество сульфогрупп ПСК связывается с атомами азота триазольных фрагментов ПВТ, а доля свободных кислотных групп невелика. Следовательно, процессы ассоциации сульфогрупп протекают в незначительной степени, и значение гидродинамического диаметра комплексов определяется, в первую очередь, взаимодействием между собой триазольной и пиридиновой составляющей. Пиридиновый фрагмент ПСК, аналогично триазольному фрагменту ПВТ, характеризуется основными свойствами и их взаимодействие, вероятно, приводит к эффекту отталкивания, разрыхлению макромолекулярных клубков и увеличению гидродинамического диаметра комплекса до 543 нм (рис. 2, а).

При четырехкратном избытке ПСК значительная часть молекул кислоты не участвует в донорно-акцепторном взаимодействии с атомами азота триазольного цикла ПВТ и остается в свободном состоянии. Аналогично исходной ПСК, эти молекулы ассоциируют между собой, приводя к образованию частиц комплекса с гидродинамическим диаметром до 530 нм (см. табл. 2).

При эквимольном соотношении ПВТ и ПСК образуются макромолекулярные частицы с наименьшим значением гидродинамического диаметра (332 нм). Так как при формировании таких комплексов одна молекула ПВТ взаимодействует с одной молекулой ПСК (рис. 2, с), что исключает возможную ассоциацию ПСК и существенно снижает возможность пространственного взаимодействия триазольного цикла ПВТ и пиридинового атома азота ПСК. Это приводит к максимальному уплотнению

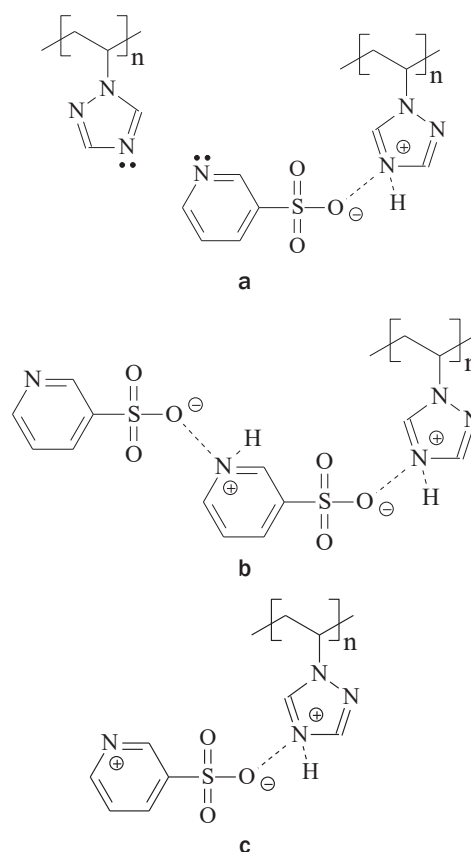


Рис. 2. Схемы межмолекулярных взаимодействий при образовании комплексов на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты: а – взаимодействие избытка поли-1-винил-1,2,4-триазола с пиридинсульфокислотой; б – взаимодействие поли-1-винил-1,2,4-триазола с избытком пиридинсульфокислоты; с – взаимодействие поли-1-винил-1,2,4-триазола с одной молекулой пиридинсульфокислоты

Fig. 2. Schemes of intermolecular interactions during the formation of complexes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridine sulfonic acid: a – interaction of poly-1-vinyl-1,2,4-triazole excess with pyridine sulfonic acid; b – interaction of poly-1-vinyl-1,2,4-triazole with pyridine sulfonic acid excess; c – interaction of poly-1-vinyl-1,2,4-triazole with one molecule of pyridine sulfonic acid

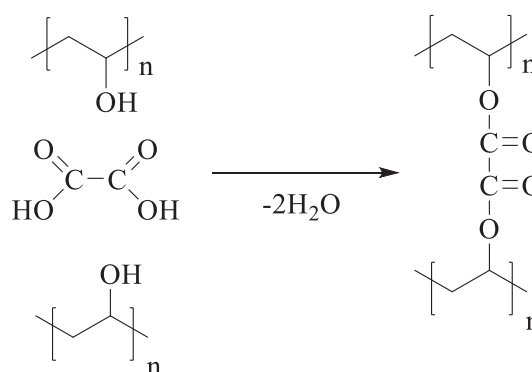


Рис. 3. Схема полимераналогичной реакции поливинилового спирта и щавелевой кислоты

Fig. 3. Scheme of polymerlike reaction of polyvinyl alcohol and oxalic acid

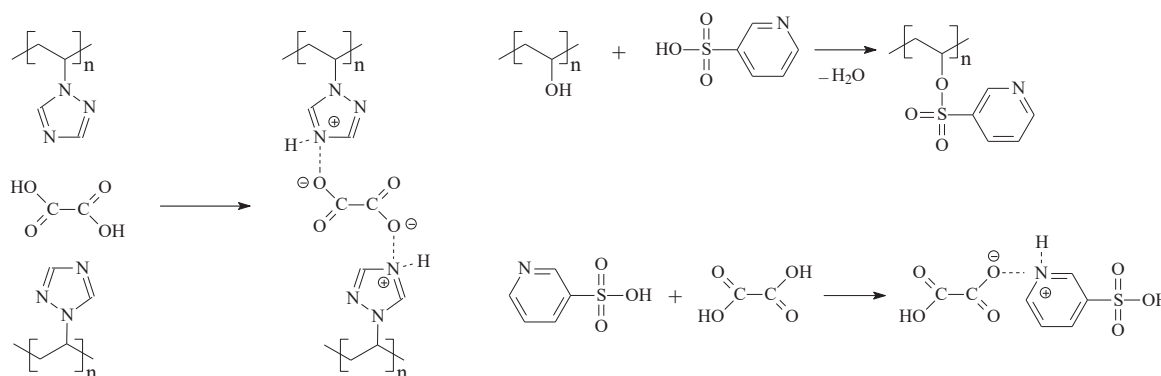


Рис. 4. Схема взаимодействия щавелевой кислоты с атомами азота триазольного цикла поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинового цикла пиридинсульфокислоты

Fig. 4. Scheme of interaction of oxalic acid with nitrogen atoms in the triazole cycle of poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and the pyridine cycle of pyridine sulfonic acid

макромолекулярных клубков и снижению значений их гидродинамического диаметра.

Полимерные комплексы на основе ПВТ и ПСК хорошо растворимы в воде, поэтому для формирования трехмерного каркаса мембраны использовали полимераналогичную реакцию взаимодействия ПВС с ЩК, протекающую по схеме (рис. 3).

Поскольку компоненты поликомплекса ПВТ-ПСК характеризуются основными свойствами, нельзя исключить возможность взаимодействия ЩК с атомами азота триазольного цикла ПВТ и пиридинового цикла ПСК. В свою очередь гидроксильные группы ПВС способны взаимодействовать с сульфогруппами ПСК. Возможные продукты указанных реакций представлены на рис. 4.

На основе продукта полимераналогичной реакции методом полива на лавсановые подложки были получены прозрачные гигроскопические смешанные мембраны ПВТ-ПСК различного состава.

В ИК-спектрах мембран (рис. 5) в области 3420–662 см⁻¹ идентифицированы полосы, характерные для валентных и деформационных колебаний: 3108, 1504, 1433, 1275, 1002, 662 см⁻¹ – триазольный фрагмент; 1152 и 1027 см⁻¹ – сульфонатные группы; 1570, 1468, 3420, 3070–3020 см⁻¹ – пиридиновые фрагменты. Стоит отметить, что по мере увеличения содержания ПСК в комплексе в спектрах наблюдаются уменьшение интенсивности полос 1504, 1433, 1275 см⁻¹ триазольного цикла, а также их смещение на 6–10 см⁻¹ в высокочастотную область. При этом возрастает интенсивность полосы поглощения в области 3420 см⁻¹, которая соответствует валентным колебаниям С–Н пиридинового кольца. Наряду с этим наблюдаются смещения полос пиридинового фрагмента ПСК 1618, 1468, 684 см⁻¹ на 4–6 см⁻¹ в высокочастотную область только в комплексе ПВТ-ПСК (80:20). Отсутствие однозначных сигналов в ИК-спектре мембран ПВТ-ПСК, принадлежащих карбоксильной группе, подтверждает количественное сшивание ПВС щавелевой кислотой.

Одной из основных эксплуатационных характеристик мембран для твердополимерных топливных элементов является термическая устойчивость, определяющая температурный интервал работы мембранно-электродного блока, поэтому для мембран ПВТ-ПСК методом термогравиметрического анализа была исследована

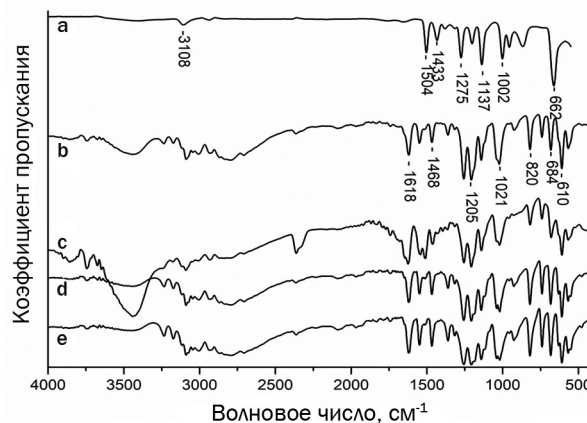


Рис. 5. Инфракрасные спектры:

a – поли-1-винил-1,2,4-триазола; b – пиридинсульфокислоты; c – мембраны на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты (20:80); d – мембраны на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты (50:50); e – мембраны на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты (80:20)

Fig. 5. Infrared spectra: a – poly-1-vinyl-1,2,4-triazole; b – pyridine sulfonic acid; c – membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridine sulfonic acid (20:80); d – membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridine sulfonic acid (50:50); e – membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridine sulfonic acid (80:20)

термоокислительная устойчивость. Анализ термограмм полученных мембран (рис. 6) позволяет выделить в процессе их термоокислительной деструкции ряд стадий. На начальном этапе нагрева (до 100 °С) происходит удаление адсорбированной и гидратной воды из материала, что не является деструктивным процессом. Потеря массы на этой стадии не превышает 10%. Основное термическое разложение вещества протекает в две выраженные фазы: в диапазонах 170–340 и 340–506 °С, где происходит глубокая деструкция его структуры (до 80%). Отщепление сульфонатных групп ПСК в сочетании с окислительной деградацией гетероциклических (пиридиновых и триазольных) фрагментов является основной причиной деструкции на данных этапах. При темпера-

турах 450–550 °С происходит термическое выгорание органической углеродной составляющей комплексов, что завершает процесс их разложения. Термическая стабильность мембран ПВТ–ПСК начинается при более низких температурах, чем у ПВТ. Ключевым фактором, определяющим это различие, является присутствие в мембранах сульфокислотных фрагментов, обладающих пониженной термостабильностью в сравнении с азотсодержащими структурами основного полимера ПВТ.

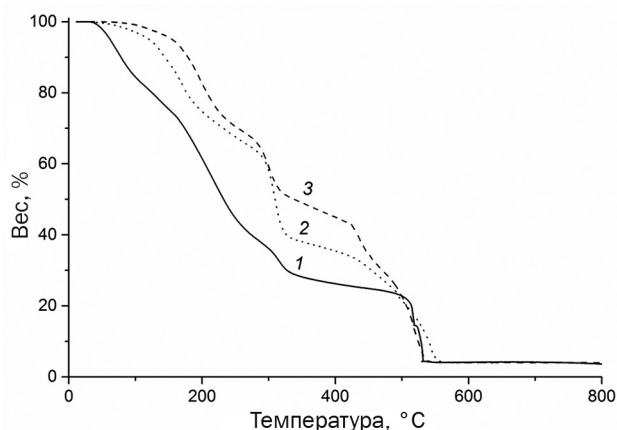


Рис. 6. Термогравиметрические кривые мембран на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты, синтезированных в мольных соотношениях в исходной смеси: 1 – 20:80; 2 – 50:50; 3 – 80:20

Fig. 6. Thermogravimetric curves of membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridine sulfonic acid synthesized in molar ratios in the initial mixture: 1 – 20:80; 2 – 50:50; 3 – 80:20

Величина ионообменной емкости и протонной проводимости мембранных материалов напрямую связана с их структурой. Однако в случае мембран

системы ПВТ–ПСК образования четких фазовых границ не наблюдалось. Сканирующая электронная микроскопия показала образование гомогенных пленок (рис. 7).

Окислительная стабильность мембран ПВТ–ПСК оценивалась по времени разрушения образца и остаточной массе при контакте их с реактивом Фентона. В течение 4 ч контакта мембран ПВТ–ПСК с реактивом Фентона массы мембран оставались без изменения. После 5 ч контакта мембран с реактивом Фентона наблюдалась потеря массы, которая составила для ПВТ–ПСК: 25% (20:80), 21% (50:50), 14% (80:20). Между тем окислительная стабильность мембраны Nafion 212® составила 10% после 8 ч контакта с реактивом Фентона [27, 31]. Очевидно, что увеличение содержания ПСК в мембранах ПВТ–ПСК приводит к снижению их химической стабильности.

Однако эта закономерность не имеет линейной зависимости и подвержена лишь незначительному влиянию, что связано с сильной интеркаляцией молекул ПСК в структуру полупроницающих полимерных сеток, образующихся при сшивании ПВС в присутствии ПВТ. Следует отметить, что наблюдается незначительное изменение окислительной стабильности, что связано с образованием полувзаимопроницающих полимерных сеток при сшивке ПВС в присутствии ПВТ. Полученные результаты показывают, что мембраны обладают хорошей устойчивостью к окислению.

Сравнительный анализ деформационно-прочностных характеристик увлажненных композиционных мембран ПВТ–ПСК и коммерческого образца Nafion 212® представлен в табл. 3. Результаты испытаний демонстрируют четкую зависимость механических свойств от состава: с ростом доли ПСК относительное удлинение возрастает с 36 до 54%, тогда как модуль упругости и предел прочности при растяжении снижается с 78 до 50 МПа и с 31 до 24 МПа соответственно. При этом по прочностным показателям все исследованные композиты уступают промышленному аналогу.

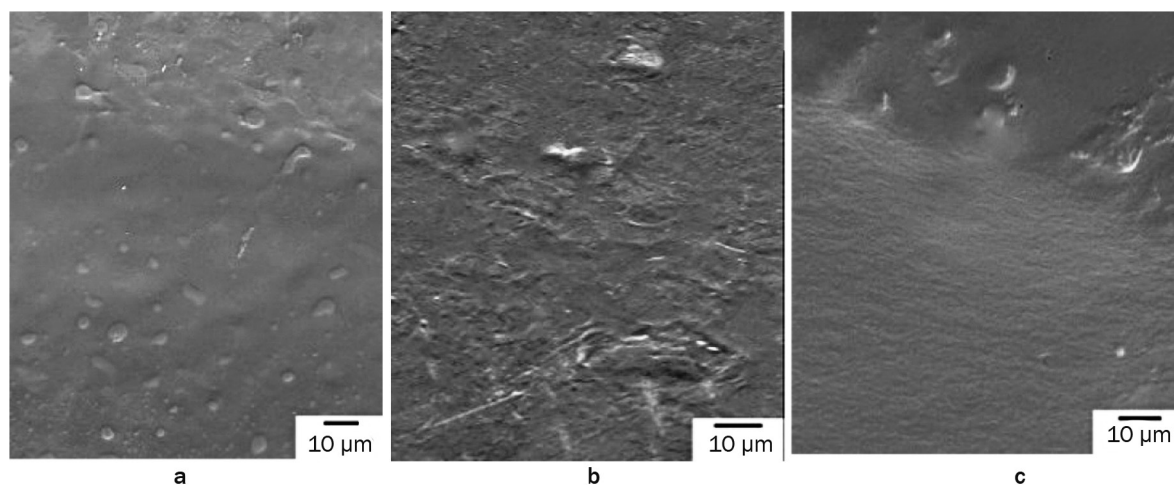


Рис. 7. Выполненная при помощи сканирующей электронной микроскопии морфология поверхности мембран на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты, синтезированных в мольных соотношениях в исходной смеси: а – 20:80; б – 50:50; в – 80:20

Fig. 7. Surface morphology of membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridine sulfonic acid using scanning electron microscopy (molar ratios in the initial mixture: a – 20:80; b – 50:50; c – 80:20)

Таблица 3. Деформационно-прочностные характеристики увлажненных мембран на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты

Table 3. Deformation and strength characteristics of moistened membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridine sulfonic acid

Мембрана	Модуль упругости, МПа	Предел прочности при растяжении, МПа	Относительное удлинение при разрыве, %
ПВТ-ПСК (20:80)	50	24	54
ПВТ-ПСК (50:50)	62	28	49
ПВТ-ПСК (80:20)	78	31	36
Nafion 212®	132	15	246

За счет большей гидрофильности ПСК по сравнению с ПВТ и с повышением содержания ее в мембране ПВТ-ПСК наблюдается увеличение водопоглощения W , ионообменной емкости $ИОЕ$, протонной проводимости (табл. 4).

Механизм взаимодействия между ПВТ и ПСК основан на образовании кислотно-основной пары, где протон сульфогруппы ПСК переносится на атом азота триазольного цикла ПВТ, связывая таким образом одну молекулу ПВТ с одной молекулой ПСК. В случае избытка ПСК в системе формируются кластерные структуры с включением непрореагировавших сульфокислотных групп. Наличие этих свободных кислотных центров напрямую обуславливает повышенную гидрофильность материала и высокую ионообменную емкость. Например, у композита ПВТ-ПСК (20:80) водопоглощение при 80 °C достигает 160%, а ионообменная емкость – 2,5 ммоль/г (см. табл. 4).

Резкое снижение водопоглощения при 30 °C (от 160 до 40%) и ионообменной емкости (от 2,5 до 1,2 ммоль/г) связано с содержанием ПСК в мембранах. При уменьшении ее содержания в мембранах образования кластеров свободной кислоты не происходит, что приводит к уменьшению водопоглощения и ионообменной емкости (см. табл. 4). Также для оценки водопоглощения мембран был использован показатель λ , который представляет собой число молекул воды, приходящееся на одну сульфогруппу. Величины этого показателя также коррелируют с содержанием ПСК в мембранах аналогично водопоглощению: с увеличением содержания ПВТ он уменьшается от 3,55 до 1,85 (см. табл. 4).

Таблица 4. Состав и свойства мембран на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты

Table 4. Composition and properties of membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridine sulfonic acid

Мембрана	W (30 °C), %	λ (nH_2O/nSO_3) (30 °C)	$ИОЕ_{туп.}$, ммол/г	E_A , кДж/моль	σ , мСм/см
ПВТ-ПСК (20:80)	160	3,55	2,50	26,50±0,50	250,00
ПВТ-ПСК (50:50)	62	2,02	1,70	55,40±0,80	25,00
ПВТ-ПСК (80:20)	40	1,85	1,20	71,80±1,30	6,25
Нафийон 212 ^а	–	–	0,95	17,04	36,00

Протонная проводимость является важнейшей характеристикой мембран для твердополимерных топливных элементов. Анализ годографов импеданса синтезированных мембран показал, что они характеризуются высокой протонной проводимостью, которая определяется содержанием в них ПСК. Результаты измерения удельной электропроводности показали, что ее величина напрямую коррелирует с концентрацией ПСК. Наибольшее значение в 250 мСм/см (при 80 °C) зарегистрировано для мембраны, обогащенной ПСК (81,1 мол.%), а наименьшее (6,25 мСм/см) – для образца с содержанием ПВТ (22,3 мол.%). Параллельно с этим энергия активации процесса протонной проводимости демонстрировала обратную зависимость, возрастая от 26,5 до 71,8 кДж/моль при увеличении доли ПВТ в композите.

При температуре от 30 до 80 °C и влажности 75% удельная электропроводность увеличивается (рис. 8). Следует также отметить, что рост протонной проводимости мембран коррелирует с их водопоглощением (см. табл. 4). Это свидетельствует о том, что транспорт протонов в этих мембранах осуществляется, в первую очередь, по системе водородных связей, которые формируются молекулами воды, адсорбированной гидрофильными каналами внутренней структуры мембраны [31, 32].

Сравнение протонпроводящих свойств полученных мембран с наиболее распространенными коммерческими (Nafion 212®) позволило сделать вывод, что новые

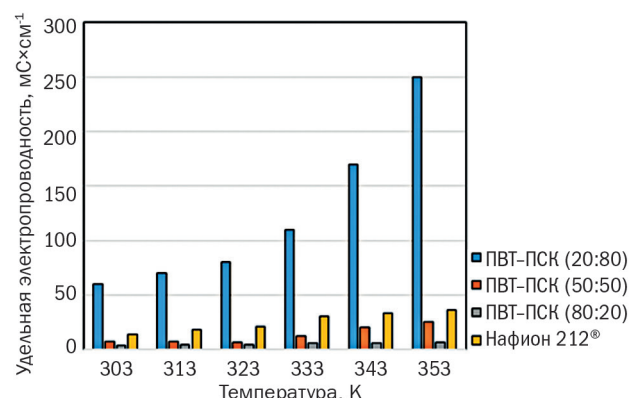


Рис. 8. Зависимость удельной электропроводности мембран на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты от температуры

Fig. 8. Specific electrical conductivity of membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridine sulfonic acid versus temperature

смешанные мембраны превосходят их по величине ионообменной емкости.

Исследование вольтамперных характеристик мембран (рис. 9) показало, что ток короткого замыкания составил для мембран ПВТ-ПСК: 340 (20:80), 400 (50:50) и 440 (80:20) $\text{мА} \times \text{см}^2$ по сравнению с коммерческой мембраной Nafion 212® (307 $\text{мА} \times \text{см}^2$).

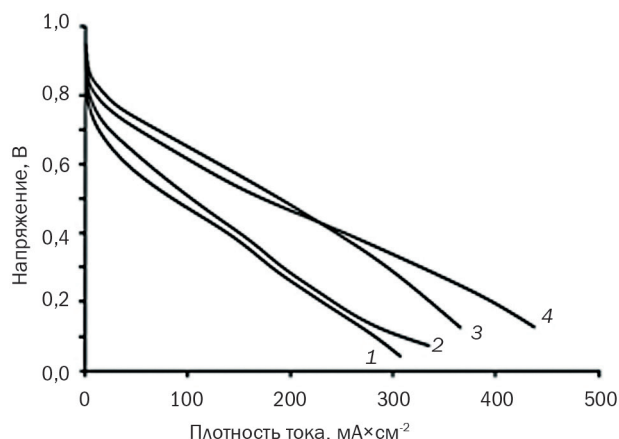


Рис. 9. Сравнительные вольтамперные характеристики коммерческого аналога Nafion 212^а (1) и мембран на основе поли-1-винил-1,2,4-триазола и пиридинсульфокислоты, синтезированных в мольных соотношениях в исходной смеси 20:80 (2), 50:50 (3) и 80:20 (4)

Fig. 9. Comparative voltage characteristics of the commercial analog Nafion 212^a (1) and membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole and pyridine sulfonic acid synthesized in molar ratios in the initial mixture 20:80 (2), 50:50 (3) and 80:20 (4)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые кислотно-основные однородные полимерные мембраны были получены путем смешивания полимерного комплекса ПВТ-ПСК с продуктами полимераналогичной реакции ПВС и ЩК. В результате полимераналогичных превращений формируются мембраны, представляющие собой трехмерный каркас, обеспечивающий мембранам термическую, химическую, в том числе окислительную устойчивость, включающий в качестве боковых групп сульфокислотные остатки, обеспечивающие высокие значения ионной проводимости. Характеристики мембран зависят от соотношения ПВТ и ПСК в составе мембран. Термическая стабильность мембран растет с увеличением содержания ПВТ в мембранах и составляет от 170 до 340 °С. ПВТ-ПСК мембраны теряют массу с увеличением времени. Через 5 ч потеря массы мембран ПВТ-ПСК оказалась равной: 25% (20:80), 21% (50:50), 14% (80:20), в то время как для мембраны Нафлон 212® составила 5%. Увеличение содержания ПСК в мембранах приводит к увеличению поглощения воды, ионообменной емкости и протонной проводимости. Протонная проводимость мембран составила для ПВТ-ПСК (20:80) – 250,00 мСм/см, ПВТ-ПСК (50:50) – 25,00 мСм/см, ПВТ-ПСК (80:20) – 6,25 мСм/см (при температуре 80 °С и влажности воздуха 75%), а энергия активации переноса протонов мембран – 26,5, 55,4 и 71,8 кДж/моль соответственно. Анализ деформационно-прочностных характеристик мембраны ПВТ-ПСК в гидратированном состоянии выявил зависимость от соотношения компонентов: рост концентрации ПСК способствует повышению эластичности (удлинение при разрыве увеличивается на 18%) и одновременному снижению модуля упругости почти на 1,6 раза. Таким образом, полученные нами мембраны могут быть использованы в качестве аналогов коммерческих мембран для низкотемпературных твердополимерных топливных элементов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Surampudi S., Narayanan S.R., Vamos E., Frank H., Halpert G., LaConti A., et al. Advances in direct oxidation methanol fuel cells // *Journal of Power Sources*. 1994. Vol. 47, no. 3. P. 377–385. DOI: 10.1016/0378-7753(94)87016-0.
2. Scott K., Taama W.M., Argyropoulos P. Performance of the direct methanol fuel cell with radiation-grafted polymer membranes // *Journal of Membrane Science*. 2000. Vol. 171, no. P. 119–130. DOI: 10.1016/S0376-7388(99)00382-8.
3. Shukla A.K., Christensen P.A., Hamnett A., Hogarth M.P. A vapour-feed direct-methanol fuel cell with proton-exchange membrane electrolyte // *Journal of Power Sources*. 1995. Vol. 55, no. 1. P. 87–91. DOI: 10.1016/0378-7753(94)02150-2.
4. Heinzel A., Barragan V.M. A review of the state-of-the-art of the methanol crossover in direct methanol fuel cells // *Journal of Power Sources*. 1999. Vol. 84, no. 1. P. 70–74. DOI: 10.1016/S0378-7753(99)00302-X.
5. Li Lei, Xu Li, Wang Yuxin. Novel proton conducting composite membranes for direct methanol fuel cell // *Wang Mater Lett*. 2003. Vol. 57, no. 8. P. 1406–1410. DOI: 10.1016/S0167-577X(02)00998-9.
6. Jung Ho-Young, Cho Ki-Yun, Sung Kyung A, Kim Wan-Keun, Park Jung-Ki. The effect of sulfonated poly (ether ether ketone) as an electrode binder for direct methanol fuel cell (DMFC) // *Journal of Power Sources*. 2006. Vol. 163, no. 1. P. 56–59. DOI: 10.1016/j.jpowsour.2006.01.075.
7. Kosmala B., Schauer J. Ion-exchange membranes prepared by blending sulfonated poly (2,6-dimethyl-1,4-phenylene oxide) with polybenzimidazole // *Journal of Applied Polymer Science*. 2002. Vol. 85, no. 5. P. 1118–1127. DOI: 10.1002/app.10632.
8. Gao Yan, Robertsons G.P., Guiver M.D., Jian Xigao, Mikhailenko S.D., Kaliaguine S. Proton exchange membranes based on sulfonated poly (phthalazinone ether ketone) s/aminated polymer blends // *Solid State Ionics*. 2005. Vol. 176, no. 3-4. P. 409–415. DOI: 10.1016/j.ssi.2004.08.009.
9. Deimede V., Voyiatzis G.A., Kallitsis J.K., Qingfeng L., Bjerrum N.J. Miscibility behavior of polybenzimidazole/sulfonated polysulfone blends for use in fuel cell applications // *Macromolecules*. 2000. Vol. 33, no. 20. P. 7609–7617. DOI: 10.1021/ma000165s.
10. Лебедева О.В., Пожидаев Ю.Н., Малахова Е.А., Раскулова Т.В., Чеснокова А.Н., Kulshrestha V. [и др.]. Сополимеры п-стиролсульфонат натрия/1-винилимидазол для кислотно-основных протонообменных мембран // *Мембраны и мембранные технологии*. 2020. Т. 10. N 2. С. 88–98. DOI: 10.1134/S2517751620020079. EDN: NWDFNJ.

- 11.** Емельянов А.И., Лебедева О.В., Малахова Е.А., Раскулова Т.В., Пожидаев Ю.Н., Верхозина Ю.А. [и др.]. Кислотно-основные мембраны для твердополимерных топливных элементов // Мембраны и мембранные технологии. 2021. Т. 11. № 3. С. 147–154. DOI: 10.1134/S2517751621030021. EDN: ZHMDRO.
- 12.** Smolarkiewicz I., Rachocki A., Pogorzelec-Glaser K., Ławniczak P., Pankiewicz R., Tritt-Goc J. Effect of surface coating of microcrystalline cellulose by imidazole molecules on proton conductivity // *European Polymer Journal*. 2016. Vol. 78. P. 186–194. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2016.038.026.
- 13.** Agmon N. The Grotthuss mechanism // *Chemical Physics Letters*. 1995. Vol. 244, no. 5–6. P. 456–462. DOI: 10.1016/0009-2614(95)00905. EDN: AOJRL.
- 14.** He Ronghuan, Li Qingfeng, Xiao Gang, Bjerrum N.J. Proton conductivity of phosphoric acid doped polybenzimidazole and its composites with inorganic proton conductors // *Journal of Membrane Science*. 2003. Vol. 226, no. 1–2. P. 169–184. DOI: 10.1016/j.memsci.2003.09.002.
- 15.** Stenina I.A., Yaroslavl'tsev A.B. Low- and intermediate- temperature proton-conducting electrolytes // *Inorganic materials*. 2017. Vol. 53, no. 3. P. 253–262. DOI: 10.1134/S0020168517030104. EDN: YVGBIJ.
- 16.** Prozorova G.F., Pozdnyakov A.S. Synthesis, properties, and biological activity of poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) and silver nanocomposites based on it // *Polymer Science - Series C*. 2022. Vol. 64, no. 1. P. 62–72. DOI: 10.1134/S1811238222010015. EDN: HPOAIM.
- 17.** Smyslov R.Y., Khripunov A.K., Kopitsa G.P., Ezdakova K.V., Gorshkova Yu.E., Migunova A.V., et al. Novel biocompatible Cu²⁺-containing composite hydrogels based on bacterial cellulose and poly-1-vinyl-1,2,4-triazole // *Smart Materials in Medicine*. 2022. Vol. 3. P. 382–389. DOI: 10.1016/j.smaim.2022.05.002. EDN: JHPRMW.
- 18.** Pozdnyakov A., Kuznetsova N., Ivanova A., Bolgova Y., Semenova T., Trofimova O., et al. Organosilicon copolymers containing triazole and triethoxysilyl groups as the basis for promising functional hydrophobic materials // *Materials Today Chemistry*. 2023. Vol. 34. P. 101808. DOI: 10.1016/j.mtchem.2023.101808. EDN: NDHRMS.
- 19.** Smyslov R., Emel'yanov A., Nekrasova T., Prozorova G., Korzhova S., Trofimova O., et al. Photoluminescence of metal-polymer complexes based on functional triazole-carbazole copolymers with terbium ions // *Applied Sciences*. 2023. Vol. 13, no. 8. P. 4762. DOI: 10.3390/app13084762. EDN: WRBHKF.
- 20.** Prozorova G., Emel'yanov A., Ivanova A., Semenova T., Fadeeva T., Nevezhina A., et al. A novel water-soluble polymer nanocomposite containing ultra-small Fe₃O₄ nanoparticles with strong antibacterial and antibiofilm activity // *Nanoscale*. 2025. Vol. 17, no. 3. P. 1458–1472. DOI: 10.1039/D4NR03276D. EDN: UMRZRO.
- 21.** Pozdnyakov A., Emel'yanov A., Ivanova A., Kuznetsova N., Semenova T., Bolgova Y., et al. Strong antimicrobial activity of highly stable nanocomposite containing AgNPs based on water-soluble triazole-sulfonate copolymer // *Pharmaceutics*. 2022. Vol. 14, no. 1. P. 206. DOI: 10.3390/pharmaceutics14010206. EDN: KGLKEJ.
- 22.** Prozorova G.F., Pozdnyakov A.S. Proton-conducting polymeric membranes based on 1,2,4-triazole // *Membranes*. 2023. Vol. 13, no. 2. P. 169. DOI: 10.3390/membranes13020169. EDN: AWAFFZB.
- 23.** Emel'yanov A., Stepanov M., Bolgova Yu., Trofimova O., Prozorova G., Pozdnyakov A. Synthesis and characterization of a novel polyfluorinated silsesquioxane polymer as a promising material for creating hydrophobic coatings and proton-conducting membranes // *Applied Materials Today*. 2024. Vol. 41. P. 102516. DOI: 10.1016/j.apmt.2024.102516. EDN: NRMPGE.
- 24.** Celik S.U., Aslan A., Bozkurt A. Phosphoric acid-doped poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) as water-free proton conducting polymer electrolytes // *Solid State Ionics*. 2008. Vol. 179, no. 19–20. P. 683–688. DOI: 10.1016/j.ssi.2008.04.033.
- 25.** Aslan A., Sen U., Bozkurt A. Preparation, properties, and characterization of polymer electrolyte membranes based on poly (1-vinyl-1,2,4 triazole) and poly (styrene sulfonic acid) // *Journal of The Electrochemical Society*. 2009. Vol. 156, no. 10. P. 1112–1116. DOI: 10.1149/1.3176878.
- 26.** Aslan A., Bozkurt A. Development and characterization of polymer electrolyte membranes based on ionic cross-linked poly (1-vinyl-1,2,4 triazole) and poly (vinylphosphonic acid) // *Journal of Power Sources*. 2009. Vol. 191, no. 2. P. 442–447. DOI: 10.1016/J.JPOWSOUR.2009.02.040. EDN: KPRGUB.
- 27.** Lebedeva O.V., Pozhidaev Yu.N., Raskulova T.V., Belkovich A.P., Ivanova A.A., Korzhova S.A., et al. Synthesis and characterization of new proton-exchange membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole doped with phenol-2,4-disulfonic acid // *International Journal of Energy Research*. 2021. Vol. 45, no. 10. P. 14547–14560. DOI: 10.1002/er.6686. EDN: RHUVSZ.
- 28.** Pozdnyakov A.S., Ivanova A.A., Emel'yanov A.I., Bolgova Y.I., Trofimova O.M., Prozorova G.F. Water-soluble stable polymer nanocomposites with AuNPs based on the functional poly(1-vinyl-1,2,4-triazole-co-N-vinylpyrrolidone) // *Journal of Organometallic Chemistry*. 2020. Vol. 922. P. 121352. DOI: 10.1016/j.jorgchem.2020.12.1352. EDN: AOSEKG.
- 29.** Gordon A.J. *The chemist's companion*. New-York, 1972. 541 p.
- 30.** Pozdnyakov A.S., Kuznetsova N.P., Semenova T.A., Bolgova Y.I., Ivanova A.A., Trofimova O.M., et al. Dithiocarbamates as effective reversible addition-fragmentation chain transfer agents for controlled radical polymerization of 1-vinyl-1,2,4-triazole // *Polymers*. 2022. Vol. 14, no. 10. P. 2029. DOI: 10.3390/polym14102029. EDN: DONENP.
- 31.** Ghorai A., Mandal A.K., Banerjee S. Synthesis and characterization of new phosphorus containing sulfonated polytriazoles for proton exchange membrane application // *Journal of Polymer Science*. 2020. Vol. 58, no. 2. P. 263–279. DOI: 10.1002/pol.20190030. EDN: BGBBLK.
- 32.** Usmanov R., Pozdnyakov A. A review on applications and challenges of fullerenes in proton exchange membranes // *Carbon Energy*. 2026. Vol. 8, no. 2. P. e70137. DOI: 10.1002/cey2.70137. EDN: KYHHHW.

REFERENCES

- 1.** Surampudi S., Narayanan S.R., Vamos E., Frank H., Halpert G., LaConti A., et al. Advances in direct oxidation methanol fuel cells. *Journal of Power Sources*. 1994;47(3):377–385. DOI: 10.1016/0378-7753(94)87016-0.
- 2.** Scott K., Taama W.M., Argyropoulos P. Performance of the direct methanol fuel cell with radiation-grafted polymer membranes. *Journal of Membrane Science*. 2000;171(1):119–130. DOI: 10.1016/S0376-7388(99)00382-8.

3. Shukla A.K., Christensen P.A., Hamnett A., Hogarth M.P. A vapour-feed direct-methanol fuel cell with proton-exchange membrane electrolyte. *Journal of Power Sources*. 1995;55(1):87-91. DOI: 10.1016/0378-7753(94)02150-2.
4. Heinzl A., Barragan V.M. A review of the state-of-the-art of the methanol crossover in direct methanol fuel cells. *Journal of Power Sources*. 1999;84(1):70-74. DOI: 10.1016/S0378-7753(99)00302-X.
5. Li Lei, Xu Li, Wang Yuxin. Novel proton conducting composite membranes for direct methanol fuel cell. *Wang Mater Lett*. 2003;57(8):1406-1410. DOI: 10.1016/S0167-577X(02)00998-9.
6. Jung Ho-Young, Cho Ki-Yun, Sung Kyung A, Kim Wan-Keun, Park Jung-Ki. The effect of sulfonated poly (ether ether ketone) as an electrode binder for direct methanol fuel cell (DMFC). *Journal of Power Sources*. 2006;163(1):56-59. DOI: 10.1016/j.jpowsour.2006.01.075.
7. Kosmala B., Schauer J. Ion-exchange membranes prepared by blending sulfonated poly (2,6-dimethyl-1,4-phenylene oxide) with polybenzimidazole. *Journal of Applied Polymer Science*. 2002;85(5):1118-1127. DOI: 10.1002/app.10632.
8. Gao Yan, Robertsons G.P., Guiver M.D., Jian Xigao, Mikhailenko S.D., Kaliaguine S. Proton exchange membranes based on sulfonated poly (phthalazinone ether ketone) s/ aminated polymer blends. *Solid State Ionics*. 2005;176(3-4): 409-415. DOI: 10.1016/j.ssi.2004.08.009.
9. Deimede V., Voyiatzis G.A., Kallitsis J.K., Qingfeng L., Bjerrum N.J. Miscibility behavior of polybenzimidazole/ sulfonated polysulfone blends for use in fuel cell applications. *Macromolecules*. 2000;33(20):7609-7617. DOI: 10.1021/ma000165s.
10. Lebedeva O.V., Pozhidaev Y.N., Malakhova E.A., Raskulova T.V., Chesnokova A.N., Kulshrestha V., et al. Sodium P-styrene sulfonate-1-vinylimidazole copolymers for acid-base proton-exchange membranes. *Membranes and Membrane Technologies*. 2020;2:76-84. (In Russian). DOI: 10.1134/S2517751620020079. EDN: NWDFNJ.
11. Emelyanov A.I., Lebedeva O.V., Malakhova E.A., Raskulova T.V., Pozhidaev Y.N., Verkhovina Y.A., et al. Acid-base membranes for solid polymer fuel cells. *Membranes and Membrane Technologies*. 2021;11(3):147-154. (In Russian). DOI: 10.1134/S2517751621030021. EDN: ZHMDRO.
12. Smolarkiewicz I., Rachocki A., Pogorzelec-Glaser K., Ławniczak P., Pankiewicz R., Tritt-Goc J. Effect of surface coating of microcrystalline cellulose by imidazole molecules on proton conductivity. *European Polymer Journal*. 2016;78:186-194. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2016.038.026.
13. Agmon N. The Grotthuss mechanism. *Chemical Physics Letters*. 1995;244(5-6):456-462. DOI: 10.1016/0009-2614(95)00905. EDN: AOJRIL.
14. He Ronghuan, Li Qingfeng, Xiao Gang, Bjerrum N.J. Proton conductivity of phosphoric acid doped polybenzimidazole and its composites with inorganic proton conductors. *Journal of Membrane Science*. 2003;226(1-2):169-184. DOI: 10.1016/j.memsci.2003.09.002.
15. Stenina I.A., Yaroslavl'tsev A.B. Low- and intermediate- temperature proton-conducting electrolytes. *Inorganic materials*. 2017;53:253-262. DOI: 10.1134/S0020168517030104. EDN: YVGBIJ.
16. Prozorova G.F., Pozdnyakov A.S. Synthesis, properties, and biological activity of poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) and silver nanocomposites based on it. *Polymer Science - Series C*. 2022;64(1):62-72. DOI: 10.1134/S1811238222010015. EDN: HPOAIM.
17. Smyslov R.Y., Khripunov A.K., Kopitsa G.P., Ezdakova K.V., Gorshkova Yu.E., Migunova A.V., et al. Novel biocompatible Cu²⁺-containing composite hydrogels based on bacterial cellulose and poly-1-vinyl-1,2,4-triazole. *Smart Materials in Medicine*. 2022;3:382-389. DOI: 10.1016/j.smaim.2022.05.002. EDN: JHPRMW.
18. Pozdnyakov A., Kuznetsova N., Ivanova A., Bolgova Y., Semenova T., Trofimova O., et al. Organosilicon copolymers containing triazole and triethoxysilyl groups as the basis for promising functional hydrophobic materials. *Materials Today Chemistry*. 2023;34:101808. DOI: 10.1016/j.mtchem.2023.101808. EDN: NDHRMS.
19. Smyslov R., Emel'yanov A., Nekrasova T., Prozorova G., Korzhova S., Trofimova O., et al. Photoluminescence of metal-polymer complexes based on functional triazole-carbazole copolymers with terbium ions. *Applied Sciences*. 2023;13(8):4762. DOI: 10.3390/app13084762. EDN: WRBHKF.
20. Prozorova G., Emel'yanov A., Ivanova A., Semenova T., Fadeeva T., Nevezhina A., et al. A novel water-soluble polymer nanocomposite containing ultra-small Fe₃O₄ nanoparticles with strong antibacterial and antibiofilm activity. *Nanoscale*. 2025;17(3):1458-1472. DOI: 10.1039/D4NR03276D. EDN: UMRZRO.
21. Pozdnyakov A., Emel'yanov A., Ivanova A., Kuznetsova N., Semenova T., Bolgova Y., et al. Strong antimicrobial activity of highly stable nanocomposite containing AgNPs based on water-soluble triazole-sulfonate copolymer. *Pharmaceutics*. 2022;14(1):206. DOI: 10.3390/pharmaceutics14010206. EDN: KGLKEJ.
22. Prozorova G.F., Pozdnyakov A.S. Proton-conducting polymeric membranes based on 1,2,4-triazole. *Membranes*. 2023;13(2):169. DOI: 10.3390/membranes13020169. EDN: AWAFFZB.
23. Emel'yanov A., Stepanov M., Bolgova Yu., Trofimova O., Prozorova G., Pozdnyakov A. Synthesis and characterization of a novel polyfluorinated silsesquioxane polymer as a promising material for creating hydrophobic coatings and proton-conducting membranes. *Applied Materials Today*. 2024;41:102516. DOI: 10.1016/j.apmt.2024.102516. EDN: NRMPEG.
24. Celik S.U., Aslan A., Bozkurt A. Phosphoric acid-doped poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) as water-free proton conducting polymer electrolytes. *Solid State Ionics*. 2008;179(19-20):683-688. DOI: 10.1016/j.ssi.2008.04.033.
25. Aslan A., Sen U., Bozkurt A. Preparation, properties, and characterization of polymer electrolyte membranes based on poly (1-vinyl-1,2,4 triazole) and poly (styrene sulfonic acid). *Journal of The Electrochemical Society*. 2009;156(10):1112-1116. DOI: 10.1149/1.3176878.
26. Aslan A., Bozkurt A. Development and characterization of polymer electrolyte membranes based on ionic cross-linked poly (1-vinyl-1,2,4 triazole) and poly (vinylphosphonic acid). *Journal of Power Sources*. 2009;191(2):442-447. DOI: 10.1016/J.JPOWSOUR.2009.02.040. EDN: KPRGUB.
27. Lebedeva O.V., Pozhidaev Yu.N., Raskulova T.V., Belkovich A.P., Ivanova A.A., Korzhova S.A., et al. Synthesis and characterization of new proton-exchange membranes based on poly-1-vinyl-1,2,4-triazole doped with phenol-2,4-disulfonic acid. *International Journal of Energy Research*. 2021;45(10):14547-14560. DOI: 10.1002/er.6686. EDN: RHUVSZ.

28. Pozdnyakov A.S., Ivanova A.A., Emel'yanov A.I., Bolgova Y.I., Trofimova O.M., Prozorova G.F. Water-soluble stable polymer nanocomposites with AuNPs based on the functional poly(1-vinyl-1,2,4-triazole-co-N-vinylpyrrolidone). *Journal of Organometallic Chemistry*. 2020;922:121352. DOI: 10.1016/j.jorganchem.2020.12.1352. EDN: AOSEKG.

29. Gordon A.J. *The chemist's companion*. New-York; 1972, 541 p.

30. Pozdnyakov A.S., Kuznetsova N.P., Semenova T.A., Bolgova Y.I., Ivanova A.A., Trofimova O.M., et al. Dithiocarbamates as effective reversible addition-fragmentation chain transfer agents for controlled radical polymerization

of 1-vinyl-1,2,4-triazole. *Polymers*. 2022;14(10):2029. DOI: 10.3390/polym14102029. EDN: DONENP.

31. Ghorai A., Mandal A.K., Banerjee S. Synthesis and characterization of new phosphorus containing sulfonated polytriazoles for proton exchange membrane application. *Journal of Polymer Science*. 2020;58(2):263-279. DOI: 10.1002/pol.20190030. EDN: BGBBLK.

32. Usmanov R., Pozdnyakov A. A review on applications and challenges of fullerenes in proton exchange membranes. *Carbon Energy*. 2026;8(2):e70137. DOI: 10.1002/cey2.70137. EDN: KYHHHW.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Лебедева Оксана Викторовна,

д.х.н., профессор, доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
✉ lebedeva@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-1609-4924>

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>

Сипкина Евгения Иннокентьевна,

к.х.н., доцент,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
evgiv84@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9220-9765>

Шакиртов Алексей Маратович,

аспирант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
Kashaggg@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7889-0574>

Шаглаева Нина Савельевна,

д.х.н., профессор, профессор,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет,
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
ShaglaevaNS@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7889-0574>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Oksana V. Lebedeva,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
✉ lebedeva@istu.edu
<https://orcid.org/0000-0002-1609-4924>

Tatyana V. Raskulova,

Dr. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Head of the Department,
Angarsk State Technical University,
60, Chaikovsky St., Angarsk, 665835,
Russian Federation,
raskulova@list.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2367-8204>

Evgenya I. Sipkina,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
evgiv84@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9220-9765>

Alexey M. Shakirtov,

Postgraduate Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
Kashaggg@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7889-0574>

Nina S. Shaglaeva,

Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Professor,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
ShaglaevaNS@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7889-0574>

Коваль Елизавета Тимофеевна,
магистрант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
Koval.I1za@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0002-7228-5845>

Данилова Арина Сергеевна,
магистрант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация,
ms.d.arina2003@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0003-4157-4182>

Прокофьев Александр Игоревич,
магистрант,
Иркутский национальный исследовательский
технический университет
664074, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 83,
Российская Федерация
prokofiev.aleksandr03@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0008-9395-4263>

Кузнецова Надежда Петровна,
к.х.н., старший научный сотрудник,
Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
nkuznetsova@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3794-7540>

Прозорова Галина Фирсовна,
д.х.н., ведущий научный сотрудник,
Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,
Российская Федерация,
prozorova@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3833-9002>

Вклад авторов

О.В. Лебедева – написание черновика рукописи,
редактирование рукописи.
Т.В. Раскулова – написание черновика
рукописи.
Е.И. Сипкина – проведение исследования.
А.М. Шакиртов – проведение исследования.
Н.С. Шаглаева – формальный анализ.
Е.Т. Коваль – проведение исследования.
А.С. Данилова – проведение исследования.
А.И. Прокофьев – проведение исследования.
Н.П. Кузнецова – курирование данных.
Г.Ф. Прозорова – курирование данных.

Elizaveta T. Koval,
Master's Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
Koval.I1za@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0002-7228-5845>

Arina S. Danilova,
Master's Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
ms.d.arina2003@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0003-4157-4182>

Alexander I. Prokofev,
Master's Student,
Irkutsk National Research Technical University,
83, Lermontov St., Irkutsk, 664074,
Russian Federation,
prokofiev.aleksandr03@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0008-9395-4263>

Nadezhda P. Kuznetsova,
Cand. Sci. (Chemistry), Senior Researcher,
A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry,
Siberian Branch of the Russian Academy
of Sciences,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
nkuznetsova@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3794-7540>

Galina F. Prozorova,
Dr. Sci. (Chemistry), Lead Researcher,
A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry,
Siberian Branch of the Russian Academy
of Sciences,
1, Favorsky St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
prozorova@irioch.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3833-9002>

Contribution of the authors

Oksana V. Lebedeva – writing – original draft,
editing.
Tatyana V. Raskulova – writing – original draft.
Evgenya I. Sipkina – investigation.
Alexey M. Shakirtov – investigation.
Nina S. Shaglaeva – formal analysis.
Elizaveta T. Koval – investigation.
Arina S. Danilova – investigation.
Alexander I. Prokofev – investigation.
Nadezhda P. Kuznetsova – data curation.
Galina F. Prozorova – data curation.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 12.12.2025.
Одобрена после рецензирования 02.02.2026.
Принята к публикации 11.03.2026.

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 12.12.2025.
Approved after reviewing 02.02.2026.
Accepted for publication 11.03.2026.



Использование гидрогелей на основе поливинилового спирта для регенеративной медицины и 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 данного исследования являлось проведение аналитического обзора гидрогелей на основе поливинилового спирта, их применения в регенеративной медицине и тканевой инженерии. Поливиниловый спирт – синтетический биоразлагаемый полимер, не имеет запаха и вкуса, хорошо растворяется в горячей воде. В зависимости от степени полимеризации выделяют четыре группы: с низкой, средней, высокой и сверхвысокой молекулярной массой. В отношении биологических объектов поливиниловый спирт нетоксичен, поэтому имеет широкое применение в тканевой инженерии, в частности для изготовления гидрогелевых композиций. Получают гидрогели с помощью физических или химических методов сшивания, где физическому методу замораживания – оттаивания отдается предпочтение по простоте изготовления и отсутствию таких химических активаторов, как глутаровый альдегид, формальдегид, являющихся токсичными в отношении клеточных культур в тканевой инженерии. Гидрогели на основе поливинилового спирта широко применяют в регенеративной медицине и тканевой инженерии. Благодаря способности впитывать, удерживать большое количество жидкости и образовывать пленки гидрогели поливинилового спирта используют для лечения поврежденных кожных покровов. Данные гидрогели дополнительно нагружают мезенхимальными стволовыми клетками, имеющими способности к многолинейной дифференцировке, обладающими возможностью уменьшать воспалительную реакцию и рубцевание, индуцировать ангиогенез и регулировать ремоделирование внеклеточного матрикса. Также в гидрогели вводят ростовые факторы, стимулирующие целенаправленную клеточную дифференцировку для регенерации поврежденных костных, хрящевых, сухожильных тканей, и лекарственные препараты для таргетной терапии пролонгированного действия. Таким образом, благодаря настраиваемым физико-химическим свойствам гидрогели на основе поливинилового спирта считаются уникальными и имеют большие перспективы в регенеративной медицине и тканевой инженерии.

Ключевые слова: поливиниловый спирт, гидрогель, регенеративная медицина, тканевая инженерия

Для цитирования: Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г. Использование гидрогелей на основе поливинилового спирта для регенеративной медицины и тканевой инженерии // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 30–39. DOI: 10.21285/achb.1017. EDN: NNSNOF.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Review article

Application of polyvinyl alcohol hydrogels in regenerative medicine and 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 present study aims to analyze polyvinyl alcohol hydrogels and their application in regenerative medicine and tissue engineering. Polyvinyl alcohol is a synthetic biodegradable polymer that has no smell or taste and readily

dissolves in hot water. Depending on the degree of polymerization, four groups of polyvinyl alcohol can be distinguished: low, medium, high, and ultra-high molecular weight. Since polyvinyl alcohol is non-toxic to biological objects, it is widely used in tissue engineering, specifically in the production of hydrogel compositions. Hydrogels are obtained via physical or chemical cross-linking methods, with preference given to the physical freeze-thaw method due to its simplicity and the absence of such chemical activators as glutaraldehyde and formaldehyde, which are toxic to cell cultures in tissue engineering. Polyvinyl alcohol hydrogels are widely used in regenerative medicine and tissue engineering. Due to their ability to absorb and retain large amounts of fluid and form films, polyvinyl alcohol hydrogels are employed to treat damaged skin. Such hydrogels are additionally loaded with mesenchymal stem cells, which can differentiate into various cell types, reduce inflammatory reactions and scarring, induce angiogenesis, and regulate extracellular matrix remodeling. Also, hydrogels are loaded with growth factors that stimulate targeted cell differentiation for the regeneration of damaged bone, cartilage, and tendon tissues, as well as medicinal substances for targeted, long-acting therapy. Thus, due to their adjustable physicochemical properties, polyvinyl alcohol hydrogels are considered unique and offer great promise in regenerative medicine and tissue engineering.

Keywords: polyvinyl alcohol, hydrogel, regenerative medicine, tissue engineering

For citation: Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A., Shurygin M.G. Application of polyvinyl alcohol hydrogels in regenerative medicine and tissue engineering. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):30-39. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1017. EDN: NNSNOF.

ВВЕДЕНИЕ

Поливиниловый спирт (ПВС) представляет собой линейный синтетический биоразлагаемый водорастворимый твердый полимер белого или светло-кремового цвета без вкуса и запаха, не токсичный, с химической формулой $(C_2H_4O)_n$, где n – степень полимеризации. ПВС не разрушается под действием ультрафиолета и бактериальных микроорганизмов. Впервые ПВС был получен еще в 1924 году химиками Вилли Германом и Вольфрамом Гонелем с помощью реакции омыления раствора поливинилового эфира и гидроксида калия. ПВС способен кристаллизоваться в интервале температур 80–225 °С, достигая степени кристалличности ~70%. При комнатной температуре в связанном состоянии находится около 70% гидроксильных групп, полное разрушение которых происходит при температуре 150 °С. Благодаря большому количеству водородных связей в молекулярной цепи ПВС хорошо растворяется только в горячей воде (~80–100 °С) при постоянном перемешивании в течение 2–4 ч. Водные растворы ПВС нестабильны, и спустя несколько часов после приготовления происходит гелеобразование.

В настоящее время ПВС считается уникальным продуктом и имеет достаточно широкую область использования, в которой медицина и биоинженеринг занимают одно из почетных мест. Благодаря своим физико-химическим свойствам ПВС является перспективным полимером для создания синтетических гидрогелей и биоинженерных композиций [1].

Целью представленного исследования являлось проведение аналитического обзора гидрогелей на основе ПВС, их применение в регенеративной медицине и тканевой инженерии.

Наряду с хорошей растворимостью в воде для ПВС свойственны пленкообразование, адгезия, термическая стабильность [2, 3], и по сравнению, например, с полиэтиленгликолем он прочнее и эластичнее. Именно количество гидроксильных функциональных групп обуславливает химические и физические свойства различных ПВС-композиций, которые также зависят и от условий реакции. Степень полимеризации и кристаллизация молекулярных цепей ПВС оказывают существенное влияние на образование гидрогеля.

По степени полимеризации ПВС можно разделить на четыре группы: со сверхвысокой (250–300 кДа),

высокой (170–220 кДа), средней (120–150 кДа) и низкой молекулярной массой (25–35 кДа). По мере увеличения степени полимеризации ПВС такие характеристики материала, как прочность, удлинение, сопротивление разрыву, гибкость и способность к восстановлению, повышаются. Исключение составляет растворимость в воде, которая имеет тенденцию к снижению [4].

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ГИДРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА

Гидрогели на основе ПВС получают с помощью физической, химической и радиационной сшивок.

Физическая сшивка. При использовании физического метода чаще применяют способ замораживания – оттаивания, при котором раствор ПВС подвергается замораживанию, чистый растворитель кристаллизуется, в то время как растворенный полимер остается в жидком виде [5]. При кристаллизации происходит формирование водородных связей, затем разделение фаз жидкость – жидкость, после чего формируются ковалентные связи. С увеличением количества циклов данного метода количество и стабильность кристаллических блоков увеличиваются. Благодаря данному методу получают стабильные гидрогели без использования дополнительных реагентов. Так, полученный данным образом гидрогель ПВС использовали для изучения влияния жесткости субстрата на дифференцировку стволовых клеток в определенные типы. Из наблюдений за культурой стволовых клеток костного мозга *in vitro* было выявлено, что более мягкий (~1 кПа) гель и более жесткий (~24 кПа) гидрогель способствуют эффективному нейрогенезу и остеогенезу клеток соответственно [6]. Также физически сшитые гидрогели ПВС используют для регенерации хрящевой ткани [7, 8]. Таким же образом – замораживанием – оттаиванием – были получены композиции гидрогелей ПВС с добавлением гиалуроновой кислоты (ГК) с широким диапазоном градиента жесткости (от ~20 до ~200 кПа). В процессе эксперимента на культуре клеток *in vitro* с использованием градиента жесткости гидрогеля ПВС/ГК было обнаружено, что для мезенхимальных стволовых клеток (МСК) костного мозга человека имеются благоприятные диапазоны жесткости для индукции дифференцировки в определенные типы клеток (~20 кПа для нервной клетки, ~40 кПа для мышечной клетки,

~80 кПа для хондроцитов и ~190 кПа для остеобластов). В итоге ученые сделали вывод, что данный гидрогель может быть использован для фундаментальных исследований, связанных с дифференцировкой стволовых клеток, перепрограммированием клеток, миграцией клеток и регенерацией тканей с точки зрения жесткости субстрата [9].

Химическая сшивка. При химическом сшивании в качестве сшивающих агентов используют такие вещества, как глutarовый альдегид, формальдегид, ацетальдегид (в присутствии серной, уксусной кислот или метанола). Этот метод позволяет получить гидрогель с хорошей структурной стабильностью в относительно мягких условиях. Кроме того, он обладает такими механическими свойствами, как высокая прочность и эластичность. Так, был создан гидрогель на основе ПВС, нагруженный противовоспалительным препаратом (диклофенак), ГК и МСК, который снижает посттравматическое воспаление, активирует хондрогенную дифференцировку стволовых клеток, ускоряет пролиферативную фазу и тем самым способствует регенерации хрящевой ткани [10].

Кроме многочисленных исследований по восстановлению хрящевой ткани химически сшитые гидрогели ПВС использовались в качестве микросреды для клеток печени. В работе [11] было отмечено повышение адгезии и пролиферации клеток НерG2, а также наблюдалась увеличенная секреция альбумина и синтез мочевины.

Образование гидрогелей в растворе можно рассматривать как золь-гель переход, где золь-фаза, содержащая разбавленные реагенты, преобразуется в гелевую фазу. Так, гидрогель ПВС был химически сшит с триметафосфатом тринатрия и гидроксидом натрия [12].

Радиационная сшивка. Радиационная сшивка относится к техническим средствам реакции сшивания между длинными полимерными цепями, вызванной излучением. Гидрогели ПВС с радиационными (электронное и гамма-излучение) сшивками обладают некоторыми преимуществами. К ним относятся легкость управления процессом гелеобразования, возможность присоединения сформированных гидрогелей и стерилизации в одном технологическом этапе; отсутствие сшивающих агентов или инициаторов [13]. При этом формируются системы, обладающие хорошей механической прочностью, адсорбционными и эластическими свойствами. Так, группа исследователей приготовила антибактериальные гидрогели с использованием поли(*N*-винил-2-пирролидона) (ПВП) и ПВС методом радиационной сшивки. Водный раствор, содержащий AgNO_3 , был добавлен к ПВП-ПВС, проведено γ -облучение, что способствовало сшиванию полимеров и синтезу наночастиц серебра одновременно. Синтезированный таким образом гидрогель обладал антибактериальными свойствами в отношении целого ряда бактерий [14].

В некоторых исследованиях отмечено, что высокая гидрофильность гидрогелей ПВС подавляет адгезию, рост и интеграцию клеток в периферические ткани. Однако смешивание геля с натуральными макромолекулами, такими как хитозан, крахмал, желатин, ГК улучшает адгезивные свойства и способствует клеточному росту [15]. Например, при включении гидроксиапатита в гидрогель на основе ПВС наблюдалось увеличение плотности клеток, так как гидроксиапатит является основным природным неорганическим компонентом

кости, обладающим биоактивностью, биосовместимостью, остеокондуктивностью и нетоксичностью [16].

СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ ГИДРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА

Применение для лечения ран. Способность ПВС-гидрогелей впитывать и удерживать большое количество жидкости, а также их абсорбционно-десорбционные свойства позволили использовать их в качестве увлажняющего элемента при различных повреждениях кожи, снижая травматичность и повышая лечебный эффект [17, 18]. Известно, что кожа самый большой орган тела, который служит первым защитным барьером от внешней среды и часто подвергается различным повреждениям. Повреждения кожи с вовлечением эпидермиса и поверхностных слоев дермы способны к самовосстановлению тканей. Однако повреждения кожи на всю толщину, достигающие гиподермы, требуют пересадки. Проблемы, связанные с доступностью здоровой кожи в качестве аутотрансплантата, и риски, связанные с применением аллотрансплантатов, сподвигли к созданию различных тканеинженерных композиций, в том числе гидрогелей с применением ПВС [19].

Наряду с увлажняющим свойством гидрогель ПВС с желатином обладает также способностью образовывать пленки, что, в свою очередь, благоприятно сказывается на лечении сложных ран. Обладая хорошей биоразлагаемостью с минимальной иммуногенностью, желатин остается одним из лучших природных материалов в тканевой инженерии как самостоятельно, так и при создании различных гидрогелевых комбинаций, доказывающих свой синергетический эффект в этой области [20, 21]. На гибкие полимерные пленки из ПВС и пектина в некоторых случаях иммобилизуют МСК, играющие важную роль в ускорении процесса заживления. МСК способны к самообновлению и многолинейной дифференцировке, обладают иммуномодулирующим эффектом, способностью уменьшать воспалительную реакцию и рубцевание, а также индуцировать ангиогенез и регулировать ремоделирование внеклеточного матрикса, что позволяет ускорить заживление [22, 23].

Наряду с МСК ПВС-гидрогели можно нагружать лекарственными препаратами и создавать депо-материалы. В этом случае лекарственное вещество высвобождается непосредственно в раневую поверхность в течение длительного времени, тем самым поддерживается терапевтическая концентрация лекарственного вещества в проблемной зоне, при этом стимулируется эпителизация по всему объему.

В качестве лекарственных препаратов используют широкий спектр веществ, участвующих в процессе заживления ран, как непосредственно для удаления некротических тканей, так и опосредованно для высвобождения факторов роста и антимикробных препаратов. Для ускорения процесса регенерации кожных покровов из ростовых факторов часто используют фактор роста фибробластов, который способствует миграции и пролиферации фибробластов, стимулируя клетки к выработке коллагена. Однако данный фактор имеет короткий период полувыведения и быструю диффузию, а также разрушается активными протеазами в месте повреждения, что приводит к нарушению процесса заживления. Создание и применение устойчивых систем для

доставки лекарственных средств позволяет избежать этих проблем. Например, применение микросфер, инкапсулированных в гидрогель, приводит к контролируемой кинетике высвобождения по сравнению с профилем высвобождения из гидрогелей или микросфер по отдельности. В этой гибридной системе микросферы отвечают за контроль высвобождения лекарственного препарата, в то время как гидрогель является каркасом для удержания клеток в своей структуре [19].

Процесс заживления поврежденных кожных покровов нередко сопровождается присоединением бактериальной инфекции, являющейся серьезной проблемой, которая не только значительно замедляет регенерацию, но и приводит к ряду осложнений. Хорошим потенциалом для заживления ран обладает гидрогель на основе ПВС с микросферами, содержащими хлорогеновую кислоту, обладающую антиоксидантными, антибактериальными и противовоспалительными свойствами. Так, в результате эксперимента было выявлено, что процент жизнеспособных клеток в группе, получавшей 2,5%-й гидрогель с микросферами, значительно увеличился с достоверным отличием через 24 и 48 ч по сравнению с контрольной группой. Исследования *in vivo* показали, что гидрогель стимулировал закрытие ран. Гистологические исследования при этом показали, что введение гидрогеля ускоряло эпителизацию и синтез коллагеновых волокон по сравнению с контрольной группой [24].

Обладая антибактериальной активностью, нагруженный (2(диметиламино)этилметакрилат и 1-бромбутан) ПВС-гидрогель способен подавлять рост таких бактерий, как *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. В результате методом сублимационной сушки был получен гидрогель, обладающий более высокой антибактериальной активностью [25].

В составе гидрогелей используют и антибактериальные пептиды природного происхождения, обладающие антибактериальной активностью широкого спектра действия. Например, вещество кателицидин ОН-САТН30, получаемый из королевской кобры, проявляет мощные бактерицидные свойства в отношении бактерий, грибов и некоторых вирусов [26]. Кателицидин ОН-САТН30 избирательно регулирует выработку хемокинов и цитокинов, не вызывая негативных иммунных реакций, индуцируя регуляторное воздействие на воспалительные реакции при лечении различных бактериальных инфекций, но легко гидролизуетс протеазами. С целью избежать преждевременного разрушения наночастицы препарата были заключены в композицию из ПВС с добавлением карбоксиметилхитозана. В результате эксперимента *in vivo* было установлено, что созданная композиция предотвращала появление бактериальной инфекции, способствуя при этом ранозаживлению [27]. Наряду с антибактериальными препаратами к гидрогелям ПВС также добавляют тромбин в качестве кровоостанавливающего агента [28]. Известно, что коагуляционный каскад активируется в ответ на кровотечение, но не всегда это эффективно без дополнительных кровоостанавливающих средств. Большинство гемостатических препаратов не способны удовлетворить требование быстрого гемостаза, особенно если дело касается кровотечений, которые невозможно остановить физическим путем. Для ускорения процесса гемостаза были получены композитные губки из ПВС и альгината с

упорядоченными микроканалами и неупорядоченной пористой структурой, для изготовления которых использовали 3D-биопринтинг и сублимационную сушку. По сравнению с обычными губками композитная губка продемонстрировала сверхбыструю водо- и кровопоглощающую способность и удовлетворительные механические свойства, что было подтверждено *in vivo* в эксперименте на крысах с поврежденной бедренной артерией [29].

Губки из ПВС также были использованы для изоляции артерий шунтирования от окружающих тканей при микроваскулярном анастомозе в качестве альтернативы традиционным коффердам, имеющим ряд таких недостатков, как нарушение работы всасывающего устройства или наличие микроворсинок при использовании ватно-марлевых тампонов. Стерильные губки изготовлены из прессованного вспененного ПВС, имеют компактную жесткую форму и при пропитывании жидкостью превращаются в мягкие губки, в несколько раз превышающие их по размеру. Наряду с этим губки можно разрезать, придав им практически любую форму. Несмотря на то что они пластичные и мягкие после погружения в обычный солевой раствор, их пористая структура означает, что они сохраняют прочность, необходимую для использования в качестве трехмерной опоры [30].

Применение в офтальмологии. В зависимости от концентрации ПВС в гидрогеле изменяются такие физические показатели, как преломление, плотность, динамическая вязкость и pH, что не могло не заинтересовать специалистов в области офтальмологии. Так, гидрогель на основе ПВС с добавлением триметафосфата натрия обладает характеристиками, аналогичными стекловидному телу глаза. В то же время определенная концентрация триметафосфата натрия также оказывает влияние на плотность и вязкость, повышает температуру гелеобразования и уменьшает поглощение воды на ~50% [31]. Благодаря тому, что гидрогели на основе ПВС имеют хорошую биосовместимость и по оптическим и физическим свойствам схожи со стекловидным телом глаза, данные гели являются перспективным материалом при тампонадах для заполнения полости стекловидного тела при отслоении сетчатки. Для улучшения исходов хирургического лечения такого заболевания, как пролиферативная витреоретинопатия, была создана гидрогелевая композиция из ПВС с добавлением хитозана с загруженными микросферами 5-фторурацила с полимолочно-когликолевой кислотой. Исследование продемонстрировало, что 3%-й гидрогель ПВС-хитозана обладает свойствами, аналогичными свойствам стекловидного тела человека, и является перспективным заменителем стекловидного тела, сшитым *in situ*. В то же время загрузка микросфер представляет собой эффективную стратегию для улучшения прогноза пролиферативной витреоретинопатии [32].

Нагруженная лекарственными препаратами ПВС-пленка на контактных линзах также является перспективной системой доставки лекарственных препаратов для глаз. Например, в эксперименте *in vitro* и *in vivo* доказано, что пирфенидон, высвобождаемый из контактной линзы, можно было обнаружить в слезах в течение 12 ч, а концентрация препарата была выше, чем у группы сравнения, которая применяла глазные

капли на всех испытуемых сроках, в то время как концентрация препарата в контактных линзах была ниже, чем в глазных каплях [33].

Наряду с этим из-за большого содержания воды гидрогели ПВС широко используют для изготовления ежедневных контактных линз, которые обладают увлажняющим свойством, уменьшая симптомы сухости глаз и дискомфорта от контактных линз [34]. Кроме контактных линз гидрогели на основе ПВС используют при изготовлении глазных капель. ПВС в этом случае применяют в качестве загустителя для повышения вязкости глазных капель с целью продлить нахождение препарата на глазной поверхности [35].

Применение в ортопедии. Большой интерес среди синтетических полимеров со стороны ортопедии гидрогели ПВС вызвали благодаря таким настраиваемым физическим и механическим свойствам, как модули сжатия, сдвига и растяжения, которые сопоставимы с суставной хрящевой тканью. Известно, что суставной хрящ представляет собой высокоорганизованную соединительную ткань из хондроцитов, окруженных плотным внеклеточным матриксом. Суставной хрящ высокопрочный (9–40 МПа), вязкий (с коэффициентом на разрыв 1000–15000 Дж·м⁻²), эластичный (с деформацией разрушения 60–120%) и гладкий (с коэффициентом трения ~0,01). Основная роль данного хряща заключается в том, чтобы обеспечить опорную поверхность, способную выдерживать большие нагрузки и способствовать движению с низким трением в течение многих лет. Поражения суставного хряща представляют собой большую медико-терапевтическую проблему, так как внутренний потенциал заживления хрящевой ткани ограничен ввиду отсутствия иннервации и кровеносных сосудов, а различные повреждения (травмы) суставов и дегенеративные заболевания негативно влияют на качество жизни, обрекая пострадавшего на постоянную боль [36]. Трансплантация хрящевой и костной тканей при этом имеет серьезные ограничения, связанные со значительными повреждениями тканей в самой области операции и зоне донорского участка, а также иммунным отторжением трансплантата и отсутствием гарантий прочности. Тканевая инженерия считается одним из наиболее перспективных подходов к регенерации хрящевой и костной тканей. Изготовление конструкций полукристаллической тканеподобной сети важна для механической реакции каркасов как при динамической, так и при мгновенной нагрузке, определяемой ее составом и структурой.

Для достижения необходимых механических (физических) параметров при изготовлении гидрогелей на основе ПВС с целью восстановления хрящевой ткани добавляют такие вещества, как биополимеры (целлюлоза, хитозан, коллаген, фибрин, ГК) и синтетические полимеры (полиакриламид, поликапролактон, полиэтиленгликоль), а также различные нанокомпозиты (материалы на основе кремния, углерода, металла). Например, был изготовлен каркас на основе ПВС, обогащенный ГК и гидроксиапатитом с использованием физического сшивания методом замораживания – оттаивания. В результате эксперимента было выявлено, что культивирование и пролиферация остеобластоподобных клеток человека MG-63 показали лучшую адгезию клеток за счет присутствия ГК и подтвердили лучшую

пролиферацию в присутствии гидроксиапатита [37]. В то же время при добавлении хитозана образуется гидрогель ПВС-хитозан с однородной сетчатой структурой, высокой плотностью сшивания за счет синергетического действия водородных связей и ионного взаимодействия без добавления химических веществ. Данный гидрогель обладает такими механическими свойствами, как прочность на разрыв 9,3 Мпа, ударная вязкость 14,6 МДж/м, а также хорошая коррозионная стойкость, электропроводность и сопротивление расширению (прочность на разрыв 4,3 МПа) [38]. Уникальными преимуществами благодаря высокой удельной поверхности, биоразлагаемости, биосовместимости и экологичности в качестве добавки к ПВС-гидрогелям обладают целлюлозные нановолокна. Окисленные нановолокна целлюлозы при этом встраивают в раствор ПВС, альгината и фосфата кальция. Гибридные гидрогели способны локально влиять на уровень кальция в окружающей среде, высвобождая кальций в кислой среде с соответствующими эффектами в зависимости от pH в механизмах заживления костей [39].

Кроме того, большое значение имеет массовая доля ПВС. Как правило, раствор с низкой вязкостью приводит к получению гидрогелей со слабыми механическими свойствами. Непосредственно для восстановления хрящевой и костной тканей весовой процент ПВС колеблется от 7 до 40 масс.%, из которых 10 и 15 масс.% являются наиболее широко используемыми [40].

Известно, что различные травмы и дегенеративные заболевания часто приводят к костным дефектам, в том числе и черепно-лицевым, имеющим индивидуальные формы. Массовое производство каркасов для устранения черепно-лицевых дефектов невозможно ввиду индивидуальных особенностей строения каждого пациента. Проектирование и разработка черепно-лицевых каркасов из ПВС является перспективным методом лечения костных аномалий. На основе данных контрлатерального черепа хирурги-ортопеды могут создать трехмерную реконструкционную модель черепа в месте дефекта. Технология трехмерной печати открывает относительно новое направление для изготовления персонализированных скаффолдов дефектов черепа на основе данных компьютерной томографии пациента. Так, в эксперименте на животных группа исследователей продемонстрировала перспективы применения данной технологии в области коррекции дефектов черепа [41].

Различные травмы хрящевой и костной тканей часто сопровождаются также повреждениями мягких тканей, в том числе нервной ткани, регенерация которой подразумевает длительный процесс. Гидрогель ПВС с добавлением желатина, содержащий 5% кроцина, ретинола является эффективным субстратом для пролиферации и нейрогенеза стволовых клеток и считается хорошей перспективой для использования в инженерии нервной ткани. Согласно полученным во время эксперимента результатам, скаффолды способствовали развитию и пролиферации МСК, так как кроцин является эффективным фактором роста и дифференцировки клеток, а ретинол – эффективным фактором роста и дифференцировки нервных клеток [42]. Благодаря сбалансированным свойствам, отвечающим требованиям нервных клеток, активность и пролиферацию нервных клеток усиливает также добавление к гидрогелю ПВС хитозана [43].

С серьезными проблемами сталкиваются при восстановлении поврежденных сухожилий, так как сухожилия включают в себя строгую иерархическую организацию плотно направленных коллагеновых волокон, параллельных друг другу, сгруппированных в пучки и связанных эндотендином из рыхлой соединительной ткани, содержащей тонкие коллагеновые фибриллы и эластические волокна. Наряду с этим сухожилия имеют крайне низкое количество кровеносных сосудов, из-за чего их естественное восстановление ограничено [44]. По этим причинам некоторые механические свойства нативных сухожилий (жесткость при растяжении, вязкоупругие реакции) по-прежнему трудно воспроизвести с помощью гидрогелей, армированных волокнами. В то же время взаимодействия между жесткими арамидными нановолокнами и ПВС позволяют создавать высокоориентированную сеть, имитирующую микроструктурное взаимодействие между выровненными коллагеновыми волокнами и протеогликанами. Ани-

зотропные композитные гидрогели демонстрируют высокие механические свойства, соответствующие свойствам естественных сухожилий, сохраняя при этом соответствующее содержание воды (~60%), а механика и функциональность сухожильных миметиков указывают на возможности их применения в передовых биомедицинских технологиях [45].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гидрогелевые композиции на основе ПВС привлекают все больше внимания при проектировании биоматериалов благодаря хорошей биосовместимости и уникальным настраиваемым физико-химическим свойствам. Обладая таким преимуществом перед природными компонентами, как высокая воспроизводимость, не зависящая от партии сырья, ПВС-гидрогели занимают достойное место и являются перспективными в регенеративной медицине и тканевой инженерии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Zhu J., Marchant R.E. Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds // *Expert Review of Medical Devices*. 2011. Vol. 8, no. 5. P. 607–626. DOI: 10.1586/erd.11.27.
2. Liu X., Zhang K., Han X., Zuo X., Li J., He H. Research status of 3D-printed composite PVA bone tissue engineering scaffolds // *Journal of prevention and treatment for stomatological diseases*. 2020. Vol. 28, no. 1. P. 52–55. (In Chinese). DOI: 10.12016/j.issn.2096-1456.2020.01.009.
3. Wen N., Jiang B., Wang X., Shang Z., Jiang D., Zhang L., et al. Overview of polyvinyl alcohol nanocomposite hydrogels for electro-skin, actuator, supercapacitor and fuel cell // *Chemical Record*. 2020. Vol. 20, no. 8. P. 773–792. DOI: 10.1002/tcr.202000001.
4. Chen Y., Song J., Wang S., Liu W. PVA-Based hydrogels: promising candidates for articular cartilage repair // *Macromolecular Bioscience*. 2021. Vol. 21, no. 10. P. 2100147. DOI: 10.1002/mabi.202100147.
5. Valentín J.L., López D., Hernández R., Mijangos C., Saalwächter K. Structure of poly(vinyl alcohol) cryo-hydrogels as studied by proton low-field NMR spectroscopy // *Macromolecules*. 2009. Vol. 42. P. 263–272. DOI: 10.1021/ma802172g.
6. Kim T.H., An D.B., Oh S.H., Kang M.K., Song H.H., Lee J.H. Creating stiffness gradient polyvinyl alcohol hydrogel using a simple gradual freezing-thawing method to investigate stem cell differentiation behaviors // *Biomaterials*. 2015. Vol. 40. P. 51–60. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.11.017.
7. Suzuki A., Sasaki S. Swelling and mechanical properties of physically crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels // *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*. 2015. Vol. 229, no. 12. P. 828–844. DOI: 10.1177/0954411915615469.
8. Yuan F., Ma M., Lu L., Pan Z., Zhou W., Cai J., et al. Preparation and properties of polyvinyl alcohol (PVA) and hydroxylapatite (HA) hydrogels for cartilage tissue engineering // *Cellular and Molecular Biology*. 2017. Vol. 63, no. 5. P. 32–35. DOI: 10.14715/cmb/2017.63.5.7.
9. Oh S.H., An D.B., Kim T.H., Lee J.H. Wide-range stiffness gradient PVA/HA hydrogel to investigate stem cell differentiation behavior // *Acta Biomaterialia*. 2016. Vol. 35. P. 23–31. DOI: 10.1016/j.actbio.2016.02.016.
10. Lu X., Dai S., Huang B., Li S., Wang P., Zhao Z., et al. Exosomes loaded a smart bilayer-hydrogel scaffold with ROS-scavenging and macrophage-reprogramming properties for repairing cartilage defect // *Bioactive Materials*. 2024. Vol. 38. P. 137–153. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2024.04.017.
11. Meng D., Lei X., Li Y., Kong Y., Huang D., Zhang G. Three dimensional polyvinyl alcohol scaffolds modified with collagen for HepG2 cell culture // *Journal of Biomaterials Applications*. 2020. Vol. 35, no. 4-5. P. 459–470. DOI: 10.1177/0885328220933505.
12. Pohan G., Mattiassi S., Yao Y., Zaw A.M., Anderson D.E.J., Cutiongco M.F.A., et al. Effect of ethylene oxide sterilization on polyvinyl alcohol hydrogel compared with gamma radiation // *Tissue Engineering. Part A*. 2020. Vol. 26, no. 19–20. P. 1077–1090. DOI: 10.1089/ten.TEA.2020.0002.
13. Duflet A.V., Kitaeva N.K., Duflet V.R. Radiationchemical preparation of poly(vinyl alcohol) hydrogels // *Radiation Physics and Chemistry*. 2015. Vol. 107. P. 1–6. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2014.08.002.
14. Alcântara M.T.S., Lincopan N., Santos P.M.D., Ramirez P.A., Brant A.J.C., Riella H.G., et al. Simultaneous hydrogel crosslinking and silver nanoparticle formation by using ionizing radiation to obtain antimicrobial hydrogels // *Radiation Physics and Chemistry*. 2020. Vol. 169. P. 108777. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2020.108777.
15. Liu Y., Geever L.M., Kennedy J.E., Higginbotham C.L., Cahill P.A., McGuinness G.B. Thermal behavior and mechanical properties of physically crosslinked PVA/Gelatin hydrogels // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2010. Vol. 3, no. 2. P. 203–209. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2009.07.001.
16. Chocholata P., Kulda V., Babuska V. Fabrication of scaffolds for bone-tissue regeneration // *Materials*. 2019. Vol. 12, no. 4. P. 568. DOI: 10.3390/ma12040568.
17. Yang W., Fortunati E., Bertoglio F., Owczarek J.S., Bruni G., Kozanecki M., et al. Polyvinyl alcohol/chitosan hydrogels with enhanced antioxidant and antibacterial properties induced by lignin nanoparticles // *Carbohydrate Polymers*. 2018. Vol. 181. P. 275–284. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.10.084.

18. Jin S.G. Production and application of biomaterials based on polyvinyl alcohol (PVA) as wound dressing // Chemistry – an Asian Journal. 2022. Vol. 17, no. 21. P. e202200595. DOI: 10.1002/asia.202200595.
19. Bahadoran M., Shamloo A., Nokoorani Y.D. Development of a polyvinyl alcohol/sodium alginate hydrogel-based scaffold incorporating bFGF-encapsulated microspheres for accelerated wound healing // Scientific Reports. 2020. Vol. 10, no. 1. P. 7342. DOI: 10.1038/s41598-020-64480-9.
20. Zulkiflee I., Fauzi M.B. Gelatin-polyvinyl alcohol film for tissue engineering: a concise review. *Biomedicines*. 2021. Vol. 9, no. 8. P. 979. DOI: 10.3390/biomedicines9080979.
21. Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А. Природные компоненты как структура гидрогелей для клеточной терапии и тканевой инженерии // Acta Biomedica Scientifica. 2023. T. 8. N 5. C. 23–35. DOI: 10.29413/ABS.2023-8.5.3. EDN: BBHVMF.
22. Kraskouski A., Hileuskaya K., Kulikouskaya V., Kabanava V., Agabekov V., Pinchuk S., et al. Polyvinyl alcohol and pectin blended films: preparation, characterization, and mesenchymal stem cells attachment // Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2021. Vol. 109, no. 8. P. 1379–1392. DOI: 10.1002/jbm.a.37130.
23. Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А. Клеточные технологии в травматологии: от клетки до тканевой инженерии // Acta Biomedica Scientifica. 2020. T. 5. N 6. C. 66–76. DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.8. EDN: IESIHX.
24. Chahardoli F., Pourmoslemi S., Asl S.S., Tamri P., Haddadi R. Preparation of polyvinyl alcohol hydrogel containing chlorogenic acid microspheres and its evaluation for use in skin wound healing // Journal of Biomaterials Applications. 2023. 37(9):1667-1675. DOI: 10.1177/08853282221150845.
25. Fan Y., Lu Q., Liang W., Wang Y., Zhou Y., Lang M. Preparation and characterization of antibacterial polyvinyl alcohol/chitosan sponge and potential applied for wound dressing // European Polymer Journal. 2021. Vol. 157. P. 110619. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2021.110619.
26. Zhao F., Lan X.-Q., Du Y., Chen P.-Y., Zhao J., Zhao F., et al. King cobra peptide OH-CATH30 as a potential candidate drug through clinic drug-resistant isolates // Zoological Research. 2018. Vol. 39, no. 2. P. 87–96. DOI: 10.24272/j.issn.2095-8137.2018.025.
27. Zou P., Lee W.-H., Gao Z., Qin D., Wang Y., Liu J., et al. Wound dressing from polyvinyl alcohol/chitosan electrospun fiber membrane loaded with OH-CATH30 nanoparticles // Carbohydrate Polymers. 2020. Vol. 232. P. 115786. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115786.
28. Pandey G., Pandey P., Arya D.K., Kanauiya S., Kapoor D.D., Gupta R.K., et al. Multilayered nanofibrous scaffold of Polyvinyl alcohol/gelatin/poly (lactic-co-glycolic acid) enriched with hemostatic/antibacterial agents for rapid acute hemostatic wound healing // International Journal of Pharmaceutics. 2023. Vol. 638. P. 22918. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2023.122918.
29. Li P., Cao L., Sang F., Zhang B., Meng Z., Pan L., et al. Polyvinyl alcohol/sodium alginate composite sponge with 3D ordered/disordered porous structure for rapidly controlling noncompressible hemorrhage // Biomaterials Advances. 2022. Vol. 134. P. 112698. DOI: 10.1016/j.msec.2022.112698.
30. Verbraeken B., Lavrysen E., Aboukais R., Menovsky T. Polyvinyl alcohol sponges to facilitate cerebral bypass surgery: technical note // World Neurosurgery. 2021. Vol. 156. P. 53–55. DOI: 10.1016/j.wneu.2021.09.007.
31. Morandim-Giannetti A.A., Silva R.C., Junior O.M., Schor P., Bersanetti P.A. Conditions for obtaining polyvinyl alcohol/trisodium trimetaphosphate hydrogels as vitreous humor substitute // Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials. 2016. Vol. 104, no. 7. P. 1386–1395. DOI: 10.1002/jbm.b.33473.
32. Yu Z., Ma S., Wu M., Cui H., Wu R., Chen S., et al. Self-assembling hydrogel loaded with 5-FU PLGA microspheres as a novel vitreous substitute for proliferative vitreoretinopathy // Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2020. Vol. 108, no. 12. P. 2435–2446. DOI: 10.1002/jbm.a.36995.
33. Wu C., Or P.W., Chong J.I.T., Don I.K.K.P., Lee C.H.C., Wu K., et al. Controllable release of pirfenidone by polyvinyl alcohol film embedded soft contact lenses *in vitro* and *in vivo* // Drug Delivery. 2021. Vol. 28, no. 1. P. 634–641. DOI: 10.1080/10717544.2021.1895911.
34. Phan C.-M., Subbaraman L.N., Jones L.W. Uptake and release of polyvinyl alcohol from hydrogel daily disposable contact lenses // Optometry and Vision Science. 2019. Vol. 96, no. 3. P. 180–186. DOI: 10.1097/OPX.0000000000001351.
35. Chen Y.-Z., Chen Z.-Y., Tang Y.-J., Tsai C.-H., Chuang Y.-L., Hsieh E.-H., et al. Development of lutein-containing eye drops for the treatment of dry eye syndrome // Pharmaceutics. 2021. Vol. 13, no. 11. P. 1801. DOI: 10.3390/pharmaceutics13111801.
36. Nazouri M., Seifzadeh A., Masaali E. Characterization of polyvinyl alcohol hydrogels as tissue-engineered cartilage scaffolds using a coupled finite element-optimization algorithm // Journal of Biomechanics. 2020. Vol. 99. P. 109525. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2019.109525.
37. Chocholata P., Kulda V., Dvorakova J., Dobra K.J., Babuska V. Biological evaluation of polyvinyl alcohol hydrogels enriched by hyaluronic acid and hydroxyapatite // International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21, no. 16. P. 5719. DOI: 10.3390/ijms21165719.
38. Luo C., Zhao H., Y., Sun X., Luo F. Fabrication of antiseptic, conductive and robust polyvinyl alcohol/chitosan composite hydrogels // Journal of Polymer Research. 2020. Vol. 27. P. 269. DOI: 10.1007/s10965-020-02247-6.
39. Abouzeid R.E., Salama A., El-Fakharany E.M., Guarino V. Mineralized polyvinyl alcohol/sodium alginate hydrogels incorporating cellulose nanofibrils for bone and wound healing // Molecules. 2022. Vol. 27, no. 3. P. 697. DOI: 10.3390/molecules27030697.
40. Chen Y., Song J., Wang S., Liu W. PVA-based hydrogels: promising candidates for articular cartilage repair // Macromolecular Bioscience. 2021. Vol. 21, no. 10. P. 2100147. DOI: 10.1002/mabi.202100147.
41. Xu Z., Sun Y., Dai H., Ma Y., Bing H. Engineered 3D-printed polyvinyl alcohol scaffolds incorporating β -tricalcium phosphate and icariin induce bone regeneration in rat skull defect model // Molecules. 2022. Vol. 27, no. 14. P. 4535. DOI: 10.3390/molecules27144535.
42. Asghari N., Irani S., Pezeshki-Moddaress M., Zandi M., Mohamadali M. Neuronal differentiation of mesenchymal stem cells by polyvinyl alcohol/Gelatin/crocin and beta-car-

otene // *Molecular Biology Reports*. 2022. Vol. 49, no. 4. P. 2999–3006. DOI: 10.1007/s11033-022-07123-8.

43. Alhosseini S.N., Moztarzadeh F., Mozafari M., Asgari S., Dodel M., Samadikuchaksaraei A., et al. Synthesis and characterization of electrospun polyvinyl alcohol nanofibrous scaffolds modified by blending with chitosan for neural tissue engineering // *International Journal of Nanomedicine*. 2012. Vol. 7. P. 25–34. DOI: 10.2147/IJN.S25376.

REFERENCES

1. Zhu J., Marchant R.E. Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds. *Expert Review of Medical Devices*. 2011;8(5):607-626. DOI: 10.1586/erd.11.27.

2. Liu X., Zhang K., Han X., Zuo X., Li J., He H. Research status of 3D-printed composite PVA bone tissue engineering scaffolds. *Journal of prevention and treatment for stomatological diseases*. 2020;28(1):52-55. (In Chinese). DOI: 10.12016/j.issn.2096-1456.2020.01.009.

3. Wen N., Jiang B., Wang X., Shang Z., Jiang D., Zhang L., et al. Overview of polyvinyl alcohol nanocomposite hydrogels for electro-skin, actuator, supercapacitor and fuel cell. *Chemical Record*. 2020;20(8):773-792. DOI: 10.1002/tcr.202000001.

4. Chen Y., Song J., Wang S., Liu W. PVA-Based hydrogels: promising candidates for articular cartilage repair. *Macromolecular Bioscience*. 2021;21(10):2100147. DOI: 10.1002/mabi.202100147.

5. Valentín J.L., López D., Hernández R., Mijangos C., Saalwächter K. Structure of poly(vinyl alcohol) cryohydrogels as studied by proton low-field NMR spectroscopy. *Macromolecules*. 2009;42:263-272. DOI: 10.1021/ma802172g.

6. Kim T.H., An D.B., Oh S.H., Kang M.K., Song H.H., Lee J.H. Creating stiffness gradient polyvinyl alcohol hydrogel using a simple gradual freezing-thawing method to investigate stem cell differentiation behaviors. *Biomaterials*. 2015;40:51-60. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.11.017.

7. Suzuki A., Sasaki S. Swelling and mechanical properties of physically crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*. 2015;229(12):828-844. DOI: 10.1177/095441191515615469.

8. Yuan F., Ma M., Lu L., Pan Z., Zhou W., Cai J., et al. Preparation and properties of polyvinyl alcohol (PVA) and hydroxylapatite (HA) hydrogels for cartilage tissue engineering. *Cellular and Molecular Biology*. 2017;63(5):32-35. DOI: 10.14715/cmb/2017.63.5.7.

9. Oh S.H., An D.B., Kim T.H., Lee J.H. Wide-range stiffness gradient PVA/HA hydrogel to investigate stem cell differentiation behavior. *Acta Biomaterialia*. 2016;35:23-31. DOI: 10.1016/j.actbio.2016.02.016.

10. Lu X., Dai S., Huang B., Li S., Wang P., Zhao Z., et al. Exosomes loaded a smart bilayer-hydrogel scaffold with ROS-scavenging and macrophage-reprogramming properties for repairing cartilage defect. *Bioactive Materials*. 2024;38:137-153. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2024.04.017.

11. Meng D., Lei X., Li Y., Kong Y., Huang D., Zhang G. Three dimensional polyvinyl alcohol scaffolds modified with collagen for HepG2 cell culture. *Journal of Biomaterials Applications*. 2020;35(4-5):459-470. DOI: 10.1177/0885328220933505.

12. Pohan G., Mattiassi S., Yao Y., Zaw A.M., Anderson D.E.J., Cutiongco M.F.A., et al. Effect of ethylene

44. Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А. Клеточные технологии в регенерации сухожилий: от клетки до тканевой инженерии // *Acta Biomedica Scientifica*. 2021. Т. 6. N 2. С. 166–175. DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.19. EDN: KDIILM.

45. Sun M., Li H., Hou Y., Huang N., Xia X., Zhu H., et al. Multifunctional tendon-mimetic hydrogels // *Science Advances*. 2023. Vol. 9, no. 7. P. eade6973. DOI: 10.1126/sciadv.ade6973.

oxide sterilization on polyvinyl alcohol hydrogel compared with gamma radiation. *Tissue Engineering. Part A*. 2020;26(19-20):1077-1090. DOI: 10.1089/ten.TEA.2020.0002.

13. Duflo A.V., Kitaeva N.K., Duflo V.R. Radiationchemical preparation of poly(vinyl alcohol) hydrogels. *Radiation Physics and Chemistry*. 2015;107:1-6. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2014.08.002.

14. Alcântara M.T.S., Lincopan N., Santos P.M.D., Ramirez P.A., Brant A.J.C., Riella H.G., et al. Simultaneous hydrogel crosslinking and silver nanoparticle formation by using ionizing radiation to obtain antimicrobial hydrogels. *Radiation Physics and Chemistry*. 2020;169:108777. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2020.108777.

15. Liu Y., Geever L.M., Kennedy J.E., Higginbotham C.L., Cahill P.A., McGuinness G.B. Thermal behavior and mechanical properties of physically crosslinked PVA/Gelatin hydrogels. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2010;3(2):203-209. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2009.07.001.

16. Chocholata P., Kulda V., Babuska V. Fabrication of scaffolds for bone-tissue regeneration. *Materials*. 2019;12(4):568. DOI: 10.3390/ma12040568.

17. Yang W., Fortunati E., Bertoglio F., Owczarek J.S., Bruni G., Kozanecki M., et al. Polyvinyl alcohol/chitosan hydrogels with enhanced antioxidant and antibacterial properties induced by lignin nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*. 2018;181:275-284. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.10.084.

18. Jin S.G. Production and application of biomaterials based on polyvinyl alcohol (PVA) as wound dressing. *Chemistry – an Asian Journal*. 2022;17(21):e202200595. DOI: 10.1002/asia.202200595.

19. Bahadoran M., Shamlou A., Nokoorani Y.D. Development of a polyvinyl alcohol/sodium alginate hydrogel-based scaffold incorporating bFGF-encapsulated microspheres for accelerated wound healing. *Scientific Reports*. 2020;10(1):7342. DOI: 10.1038/s41598-020-64480-9.

20. Zulkiflee I., Fauzi M.B. Gelatin-polyvinyl alcohol film for tissue engineering: a concise review. *Biomedicines*. 2021;9(8):979. DOI: 10.3390/biomedicines9080979.

21. Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A. Natural components as the structure of hydrogels for cellular therapy and tissue engineering. *Acta Biomedica Scientifica*. 2023;8(5):23-35. (In Russian). DOI: 10.29413/ABS.2023-8.5.3. EDN: BBHVMF.

22. Kraskouski A., Hileuskaya K., Kulikouskaya V. Kabanava V., Agabekov V., Pinchuk S., et al. Polyvinyl alcohol and pectin blended films: preparation, characterization, and mesenchymal stem cells attachment. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2021;109(8):1379-1392. DOI: 10.1002/jbm.a.37130.

23. Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A. Cellular technologies in traumatology: from cells to tissue engineering. *Acta Biomedica Scientifica*. 2020. Vol. 5,

no. 6. P. 66-76. (In Russian). DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.8. EDN: IESIHX.

24. Chahardoli F., Pourmoslemi S., Asl S.S., Tamri P., Haddadi R. Preparation of polyvinyl alcohol hydrogel containing chlorogenic acid microspheres and its evaluation for use in skin wound healing. *Journal of Biomaterials Applications*. 2023;37(9):1667-1675. DOI: 10.1177/08853282221150845.

25. Fan Y., Lu Q., Liang W., Wang Y., Zhou Y., Lang M. Preparation and characterization of antibacterial polyvinyl alcohol/chitosan sponge and potential applied for wound dressing. *European Polymer Journal*. 2021;157:110619. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2021.110619.

26. Zhao F., Lan X.-Q., Du Y., Chen P.-Y., Zhao J., Zhao F., et al. King cobra peptide OH-CATH30 as a potential candidate drug through clinic drug-resistant isolates. *Zoological Research*. 2018;39(2):87-96. DOI: 10.24272/j.issn.2095-8137.2018.025.

27. Zou P., Lee W.-H., Gao Z., Qin D., Wang Y., Liu J., et al. Wound dressing from polyvinyl alcohol/chitosan electrospun fiber membrane loaded with OH-CATH30 nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*. 2020;232:115786. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115786.

28. Pandey G., Pandey P., Arya D.K., Kanaujiya S., Kapoor D.D., Gupta R.K., et al. Multilayered nanofibrous scaffold of Polyvinyl alcohol/gelatin/poly (lactic-co-glycolic acid) enriched with hemostatic/antibacterial agents for rapid acute hemostatic wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*. 2023;638:122918. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2023.122918.

29. Li P., Cao L., Sang F., Zhang B., Meng Z., Pan L., et al. Polyvinyl alcohol/sodium alginate composite sponge with 3D ordered/disordered porous structure for rapidly controlling noncompressible hemorrhage. *Biomaterials Advances*. 2022;134:112698. DOI: 10.1016/j.msec.2022.112698.

30. Verbraeken B., Lavrysen E., Aboukais R., Menovsky T. Polyvinyl alcohol sponges to facilitate cerebral bypass surgery: technical note. *World Neurosurgery*. 2021;156:53-55. DOI: 10.1016/j.wneu.2021.09.007.

31. Morandim-Giannetti A.A., Silva R.C., Junior O.M., Schor P., Bersanetti P.A. Conditions for obtaining polyvinyl alcohol/trisodium trimetaphosphate hydrogels as vitreous humor substitute. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2016;104(7):1386-1395. DOI: 10.1002/jbm.b.33473.

32. Yu Z., Ma S., Wu M., Cui H., Wu R., Chen S., et al. Self-assembling hydrogel loaded with 5-FU PLGA microspheres as a novel vitreous substitute for proliferative vitreoretinopathy. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2020;108(12):2435-2446. DOI: 10.1002/jbm.a.36995.

33. Wu C., Or P.W., Chong J.I.T., Don I.K.K.P., Lee C.H.C., Wu K., et al. Controllable release of pirfenidone by polyvinyl alcohol film embedded soft contact lenses *in vitro* and *in vivo*. *Drug Delivery*. 2021;28(1):634-641. DOI: 10.1080/10717544.2021.1895911.

34. Phan C.-M., Subbaraman L.N., Jones L.W. Uptake and release of polyvinyl alcohol from hydrogel daily disposable contact lenses. *Optometry and Vision Science*. 2019;96(3):180-186. DOI: 10.1097/OPX.0000000000001351.

35. Chen Y.-Z., Chen Z.-Y., Tang Y.-J., Tsai C.-H., Chuang Y.-L., Hsieh E.-H., et al. Development of lutein-containing eye drops for the treatment of dry eye syndrome. *Pharmaceutics*. 2021;13(11):1801. DOI: 10.3390/pharmaceutics13111801.

36. Nazouri M., Seifzadeh A., Masaeli E. Characterization of polyvinyl alcohol hydrogels as tissue-engineered cartilage scaffolds using a coupled finite element-optimization algorithm. *Journal of Biomechanics*. 2020;99:109525. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2019.109525.

37. Chocholata P., Kulda V., Dvorakova J., Dobra K.J., Babuska V. Biological evaluation of polyvinyl alcohol hydrogels enriched by hyaluronic acid and hydroxyapatite. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(16):5719. DOI: 10.3390/ijms21165719.

38. Luo C., Zhao H., Y., Sun X., Luo F. Fabrication of antiseptic, conductive and robust polyvinyl alcohol/chitosan composite hydrogels. *Journal of Polymer Research*. 2020;27:269. DOI: 10.1007/s10965-020-02247-6.

39. Abouzeid R.E., Salama A., El-Fakharany E.M., Guarino V. Mineralized polyvinyl alcohol/sodium alginate hydrogels incorporating cellulose nanofibrils for bone and wound healing. *Molecules*. 2022;27(3):697. DOI: 10.3390/molecules27030697.

40. Chen Y., Song J., Wang S., Liu W. PVA-based hydrogels: promising candidates for articular cartilage repair. *Macromolecular Bioscience*. 2021;21(10):2100147. DOI: 10.1002/mabi.202100147.

41. Xu Z., Sun Y., Dai H., Ma Y., Bing H. Engineered 3D-printed polyvinyl alcohol scaffolds incorporating β -tricalcium phosphate and icariin induce bone regeneration in rat skull defect model. *Molecules*. 2022;27(14):4535. DOI: 10.3390/molecules27144535.

42. Asghari N., Irani S., Pezeshki-Moddaress M., Zandi M., Mohamadali M. Neuronal differentiation of mesenchymal stem cells by polyvinyl alcohol/Gelatin/crocin and beta-carotene. *Molecular Biology Reports*. 2022;49(4):2999-3006. DOI: 10.1007/s11033-022-07123-8.

43. Alhosseini S.N., Moztarzadeh F., Mozafari M., Asgari S., Dodel M., Samadikuchaksaraei A., et al. Synthesis and characterization of electrospun polyvinyl alcohol nanofibrous scaffolds modified by blending with chitosan for neural tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine*. 2012;7:25-34. DOI: 10.2147/IJN.S25376.

44. Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A. Cellular technologies in traumatology: from cells to tissue engineering. *Acta Biomedica Scientifica*. 2021;6(2):166-175. (In Russian). DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.19. EDN: KDIILM.

45. Sun M., Li H., Hou Y., Huang N., Xia X., Zhu H., et al. Multifunctional tendon-mimetic hydrogels. *Science Advances*. 2023;9(7):eade6973. DOI: 10.1126/sciadv.ade6973.

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 Российской академии наук,
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>

Вклад авторов

Н.Н. Дремина – разработка концепции,
проведение исследования.
И.С. Трухан – разработка концепции,
проведение исследования.
И.А. Шурыгина – разработка концепции,
проведение исследования, курирование
данных, научное руководство.
М.Г. Шурыгин – разработка концепции,
проведение исследования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 14.06.2024.
Одобрена после рецензирования 29.01.2025.
Принята к публикации 11.02.2026.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Natalya N. Dremina,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Irkutsk Scientific Center
of Surgery and Traumatology,
1, Bortsov Revolitsii 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,
1, Bortsov Revolitsii 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,
1, Bortsov Revolitsii 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,
1, Bortsov Revolitsii St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
mshurygin@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-5921-0318>

Contribution of the authors

Natalya N. Dremina – conceptualization,
investigation.
Irina S. Trukhan – conceptualization,
investigation.
Irina A. Shurygina – conceptualization,
investigation, data curation, supervision
Michael G. Shurygin – conceptualization,
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 14.06.2024.
Approved after reviewing 29.01.2025.
Accepted for publication 11.02.2026.



Биохимические свойства молокосвертывающих ферментов отечественного производства

А.В. Гришкова*****, Ю.Г. Стурова***✉, А.Д. Коваль*, О.Н. Мусина***

*Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий, Барнаул, Российская Федерация

**Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Российская Федерация

***Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова,
Барнаул, Российская Федерация

Аннотация. На сегодняшний день первостепенной задачей пищевых и перерабатывающих отраслей агропромышленного комплекса, включая молочную индустрию, является снабжение всех слоев населения качественными, безопасными для здоровья и полноценными продуктами питания. Сыры в связи с уникальностью органолептических характеристик, полноценностью биохимического состава всегда сохраняют свою привлекательность для потребителей и занимают важное место в системе здорового питания. Длительность цикла производства полутвердых сыров в числе прочего связана с применяемым молокосвертывающим ферментом. Правильно подобранный ферментный препарат будет способствовать не только получению качественной продукции, но и, как следствие, повышению прибыли предприятия. Для получения продукции высокого качества важно знать особенности биохимических свойств молокосвертывающих ферментных препаратов, применяемых при выработке сыра. Проведенные исследования по изучению качественного состава, протеолитической активности, зависимости от присутствия ионов кальция, pH, устойчивости к повышению температуры – свойств, играющих важную роль в процессе свертывания молочной смеси как одного из важных этапов в производстве сыра, показали, что отечественные молокосвертывающие ферментные препараты соответствуют требованиям сыродельной отрасли. Важным является факт того, что отечественные предприятия по производству молокосвертывающих ферментных препаратов не выдерживают конкурентной борьбы с иностранными компаниями, занимающими в настоящее время подавляющую долю рынка. Согласно статистическим данным, доля рынка отечественных предприятий по производству молокосвертывающих ферментных препаратов составляет не более 10%. На наш взгляд, проблема развития производства молокосвертывающих ферментных препаратов в нашей стране является одной из самых острых и требует своего решения.

Ключевые слова: пепсин, химозин, молокосвертывающие ферментные препараты, молокосвертывающая активность, протеолитическая активность, термостабильность

Финансирование: Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки РФ (№ 075-03-2024-105, номер темы FZMM-2024-0003, рег. № НИОКТР 124013000666-5).

Для цитирования: Гришкова А.В., Стурова Ю.Г., Коваль А.Д., Мусина О.Н. Биохимические свойства молокосвертывающих ферментов отечественного производства // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 40–51. DOI: 10.21285/achb.1021. EDN: FPGUZS.

Biochemical properties of Russian milk-clotting enzymes

Anastasiya V. Grishkova*,*****, Yuliya G. Sturova***✉,
Anatoliy D. Koval*, Olga N. Musina***

*Federal Altai Scientific Center for Agrobiotechnology, Barnaul, Russian Federation

**Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation

***Polzunov Altai State Technical University, Barnaul, Russian Federation

Abstract. The contemporary food and processing industries of the agro-industrial complex, including the dairy industry, primarily aim to supply all segments of the population with high-quality, healthy, and nutritious food. Due to the uniqueness of organoleptic characteristics and a valuable biochemical composition, cheese retains its attractiveness for consumers and occupies an important place in the system of healthy nutrition. The duration of the production cycle for semi-firm cheese, among other things, depends on used milk-clotting enzymes. A properly selected enzyme preparation will both contribute to the quality of products and increase the profit of the enterprise. The quality of cheese products depends on the biochemical properties of used milk-clotting enzyme preparations. Enzyme properties, such as the qualitative composition, proteolytic activity, dependence on the presence of calcium ions, pH, and resistance to temperature rise, important for the process of clotting as one of the main stages in cheese production were studied. The results of the studies showed that Russian milk-clotting enzyme preparations meet the requirements of the cheese industry. It is important to note that Russian enterprises producing milk-clotting enzyme preparations fail to withstand competition from foreign companies that currently occupy an overwhelming market share. According to statistics, the market share of domestic enterprises for the production of milk-clotting enzyme preparations is no more than 10%. The issue of developing the production of milk-clotting enzyme preparations in Russia is challenging and demanding for solution.

Keywords: pepsin, chymosin, milk-clotting enzyme preparations, milk-clotting activity, proteolytic activity, thermostability

Funding. The work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (no. 075-03-2024-105, topic no. FM-2024-0003, reg. no. 124013000666-5).

For citation: Grishkova A.V., Sturova Yu.G., Koval A.D., Musina O.N. Biochemical properties of Russian milk-clotting enzymes. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):40-51. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1021. EDN: FPGUZS.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в обществе превалирует тенденция поддержания здорового образа жизни. Это стремление обусловлено множеством факторов – социальных, экономических, экологических и прочих. Так, все возрастающий уровень образования населения и его информированности по различным вопросам побуждает людей тщательнее следить за состоянием здоровья, учитывая среди прочего структуру рационального питания. Поскольку вопросы продолжительности жизни и качества питания населения страны имеют прямую взаимосвязь, они решаются на уровне правительства. Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года утверждена распоряжением Правительства РФ от 29.06.2016 № 1364-р¹ и активно реализуется в настоящее время. В связи с этим выделяется первостепенная задача пищевых и перерабатывающих отраслей агропромышленного комплекса, а вместе с тем и молочной индустрии –

снабжение всех слоев населения качественными, безопасными для здоровья и полноценными продуктами питания [1, 2].

Сыры различных групп в связи с уникальностью органолептических характеристик каждого конкретного вида, полноценностью биохимического состава всегда сохраняют свою привлекательность для потребителей, являясь одной из наиболее популярных и востребованных ассортиментных групп молочных продуктов, и занимают важное место в системе здорового питания.

С экономической точки зрения актуальным является вопрос интенсификации процесса созревания твердых и полутвердых сыров. Длительность цикла производства полутвердых сыров связана в числе прочего с применением молокосвертывающим ферментом. Правильно подобранный ферментный препарат будет способствовать не только получению качественной продукции, но и, как следствие, повышению прибыли предприятия [3].

¹Об утверждении Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года: распоряжение Правительства Российской Федерации от 29 июня 2016 года № 1364-р // Docs.cntd.ru. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/420363999?marker=6540IN> (дата обращения 17.02.2026).

Для получения продукции высокого качества важно знать особенности биохимических свойств молокосвертывающих ферментных препаратов (МФП), применяемых при выработке сыра. Под их воздействием происходит преобразование молочной смеси в сгусток на первых этапах технологического процесса изготовления продукта и формирование консистенции и вкуса в процессе созревания.

Целью проведенного исследования являлось изучение ряда биохимических показателей отечественных МФП, играющих значительную роль в процессе свертывания молочной смеси как одного из важных этапов в производстве сыра. Изучены качественный состав, протеолитическая активность, зависимость от присутствия ионов кальция, pH, устойчивость к повышению температуры.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования по изучению биохимических свойств МФП проводились в лаборатории биохимии молока и молочных продуктов отдела «Сибирский научно-исследовательский институт сыроделия» Федерального Алтайского научного центра агrobiотехнологий (г. Барнаул, Россия).

В качестве образца для сравнения был взят отраслевой контрольный образец сычужного фермента (ОКО СФ). Исследованы препараты с различным качественным составом разных отечественных предприятий, в том числе: ЗАО «КСП» (г. Ангелс), ОАО «Арбина» (г. Иваново), ОАО «МЗСФ» (г. Москва).

Применялись стандартные методы исследования свойств МФП, соответствующие ГОСТ 10288-2001 «Препараты ферментные молокосвертывающие». Протеолитическая активность препаратов определялась по методу Е.Д. Каверзневой [4]. Взятые в работу реактивы соответствовали квалификации «Ч.Д.А.» или «Х.Ч.».

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В основе формирования качественных характеристик сыров любой группы лежат ферментативные процессы основных составляющих частей сырной массы, которые образуют множественные соединения, влияющие на специфический вкус и аромат продукта.

Наиболее важным из них является процесс протеолиза белковых компонентов сыра, который вызывают различные ферменты: нативная протеаза молока, протеазы заквасочной микрофлоры и, конечно же, ферменты молокосвертывающих препаратов.

Нашей целью было изучение основных технологических свойств МФП.

Исследование специфической молокосвертывающей активности, которая важна с точки зрения количества вносимого фермента (так, например, при молокосвертывающей активности, равной 100000 у.е., вносят 2,5 г МФП на 100 л смеси), а также получения качественного плотного сгустка, дающего легкое отделение сыворотки на изломе, показало результаты, отображенные на рис. 1.

Специфическая, или молокосвертывающая активность заключается в разрушении пептидной связи между аминокислотами в положении 105 (Phe) и 106 (Met) в молекуле κ -казеина. Это та активность, которая обязательно должна быть указана на упаковке МФП [5]. Данный показатель был близок к декларируемой производителем величине во всех исследованных нами

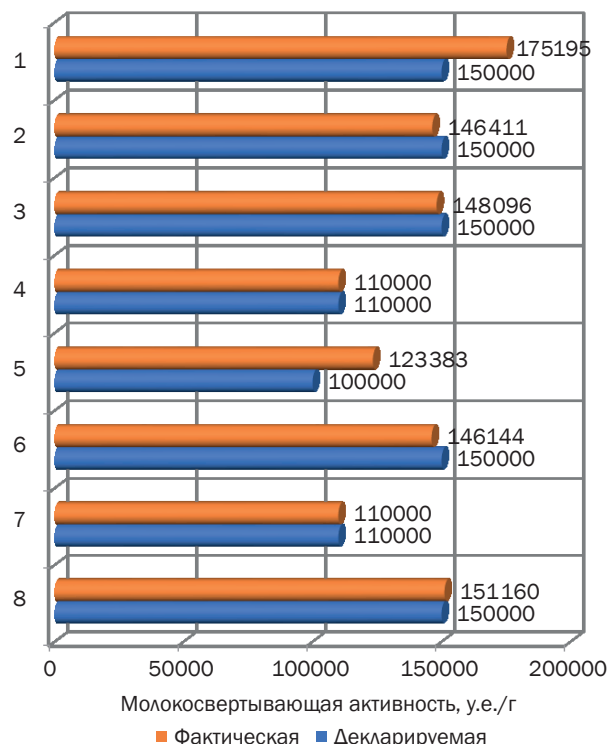


Рис. 1. Молокосвертывающая активность ферментных препаратов:

- 1 – говяжий пепсин (ГП) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 2 – куриный пепсин (КП) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 3 – свиной пепсин (СП) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 4 – сычужно-говяжий фермент ВНИИМС (СГ-50) ЗАО «КСП», г. Ангелс;
- 5 – сычужно-говяжий фермент ВНИИМС (СГ-50) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 6 – сычужный порошок (СП) ОАО «Арбина», г. Иваново;
- 7 – сычужный фермент (СФ) ЗАО «КСП», г. Ангелс;
- 8 – сычужный фермент (СФ) ОАО «МЗСФ», г. Москва

Fig. 1. Milk-coagulating activity of enzyme preparations:

- 1 – beef pepsin (ГП), Moscow rennet plant, Moscow;
- 2 – chicken pepsin (КП), Moscow rennet plant, Moscow;
- 3 – pork pepsin (СП), Moscow rennet plant, Moscow;
- 4 – beef rennet, Russian Research Institute of Butter and Cheese Making (СГ-50), Special Product Corporation, Engels;
- 5 – beef rennet, Russian Research Institute of Butter and Cheese Making (СГ-50), Moscow rennet plant, Moscow;
- 6 – rennet powder (СП), "Arbina", Ivanovo;
- 7 – rennet (СФ), Special Product Corporation, Engels;
- 8 – rennet (СФ), Moscow rennet plant, Moscow

образцах. В отдельных образцах МФП эти отличия присутствовали, но не выходили за рамки допустимой погрешности определения, предусмотренной документацией (рис. 2). Кроме того, осуществляя постановку кружки ВНИИМС при выработке сыра, технолог может определить дозу фермента, необходимую для внесения, максимально точно.

В состав МФП животного происхождения входят два активных компонента: химозин и пепсин. Химозин способен к ограниченному воздействию на молекулу κ -казеина, поскольку обладает узкой специфичностью действия. Этот фермент разрушает связь Phe (105) – Met (106). Участие химозина в процессе созревания



Рис. 2. Качественный состав исследуемых молокосвертывающих ферментных препаратов:

- 1 – куриный пепсин (КП) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 2 – свиной пепсин (СП) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 3 – говяжий пепсин (ГП) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 4 – сычужно-говяжий фермент ВНИИМС (СГ-50) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 5 – сычужно-говяжий фермент ВНИИМС (СГ-50) ЗАО «КСП», г. Энгельс;
- 6 – сычужный порошок (СП) ОАО «Арбина», г. Иваново;
- 7 – сычужный фермент (СФ) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 8 – сычужный фермент (СФ) ЗАО «КСП», г. Энгельс

Fig. 2. Qualitative composition of the studied milk-converting enzyme preparations:

- 1 – chicken pepsin (КП), Moscow rennet plant, Moscow;
- 2 – pork pepsin (СП), Moscow rennet plant, Moscow;
- 3 – beef pepsin (ГП), Moscow rennet plant, Moscow;
- 4 – beef rennet, Russian Research Institute of Butter and Cheese Making (СГ-50), Moscow rennet plant, Moscow;
- 5 – beef rennet, Russian Research Institute of Butter and Cheese Making (СГ-50), Special Product Corporation, Engels;
- 6 – rennet powder (СП), “Arbina”, Ivanovo;
- 7 – rennet (СФ), Moscow rennet plant, Moscow;
- 8 – rennet (СФ), Special Product Corporation, Engels

сыра будет определять консистенцию вырабатываемого сыра, влияние же его на вкус весьма ограничено. Пепсин, в отличие от химозина, способен гидролизовать другие пептидные связи в белках молока, обуславливая тем самым вкус и процесс созревания продукта [6–8]. По этой причине необходимо было изучить качественный состав МФП, а именно соотношение пепсина и химозина, а также неспецифическую (протеолитическую) активность.

Результаты исследования качественного состава препаратов представлены на рис. 1. Важно отметить, что предприятия, производящие МФП для выработки сыра, должны в обязательном порядке указывать на этикетке информацию о количественном соотношении активных компонентов (химозина и пепсина). Это соотношение является установленным, например, для сычужного

фермента – не более 30% пепсина, в смесевых композициях – не более 50%. Для сыроделов важно иметь объективную информацию о составе фермента, которая позволит осуществить правильный выбор препарата в зависимости от того, сыры каких групп вырабатываются конкретными сыродельными заводами.

Результаты проведенных исследований показывают, что соотношение активных компонентов в составе исследованных препаратов сычужного фермента и пепсинов соответствует требованиям. Более того, препарат говяжьего пепсина содержал достаточно высокое количество химозина (29,5%). В то же время препараты смесевых композиций не соответствовали указанным выше требованиям. Так, в сычужно-говяжем ферменте ВНИИМС (СГ-50) производства ОАО «МЗСФ» наблюдалось незначительное отклонение от установленного стандарта (на 7% больше содержание пепсина). Сычужно-говяжий фермент ВНИИМС (СГ-50) производства ЗАО «КСП» содержал только 14% химозина. Возможно, эта партия фермента не соответствовала требованиям либо при совершении логистики не соблюдались условия хранения препарата (например, варьировали температура и влажность). Гипотетически можно предположить, что при повышении указанных параметров в результате высокой неспецифической активности пепсина под воздействием последнего мог произойти гидролиз молекул химозина и таким образом снизилась его активность. Вследствие этого можно заключить, что для получения сыра с высокими качественными показателями необходимо тщательно подбирать МФП для каждого конкретного вида.

Важным показателем применяемых в сыроделии МФП является протеолитическая активность, которая заключается в неспецифическом протеолизе других пептидных связей, помимо 105 (Phe) и 106 (Met), в молекуле белка. Это приводит к накоплению относительно мелких белковых фрагментов – высоко- и низкомолекулярных пептидов [9]. Результаты исследований протеолитической активности представлены на рис. 3, 4.

В природе нет ферментов, катализирующих разрыв только связи 105 (Phe) – 106 (Met) в молекуле к-казеина, но молокосвертывающие ферменты должны разрывать эту связь во много раз быстрее, чем другие связи в протеинах молока, так как весь к-казеин должен быть гидролизован молокосвертывающими ферментами во время выработки сыра, иначе не произойдет коагуляция казеина или значительная часть казеина останется в сыворотке². Протеолитическая активность необходима с технологической точки зрения, поскольку биохимические процессы, протекающие в сыре в результате ее проявления, влияют на созревание сыра, формируя вкус и аромат продукта. Важно подчеркнуть, что на этапе формирования сгустка в сыродельной ванне избыточная общая протеолитическая активность может повлиять на снижение выхода продукта из-за потерь белка с сывороткой [10].

Химозин имеет низкую общую протеолитическую активность, что определяется физиологическим зна-

²Гришкова А.В. Научное обоснование и практическая реализация композиций протеолитических и липолитических ферментных препаратов с заданными характеристиками для интенсификации процесса со-зревания сыров: дис. ... д-ра биол. наук: 4.3.5. Кемерово, 2024. 420 с.

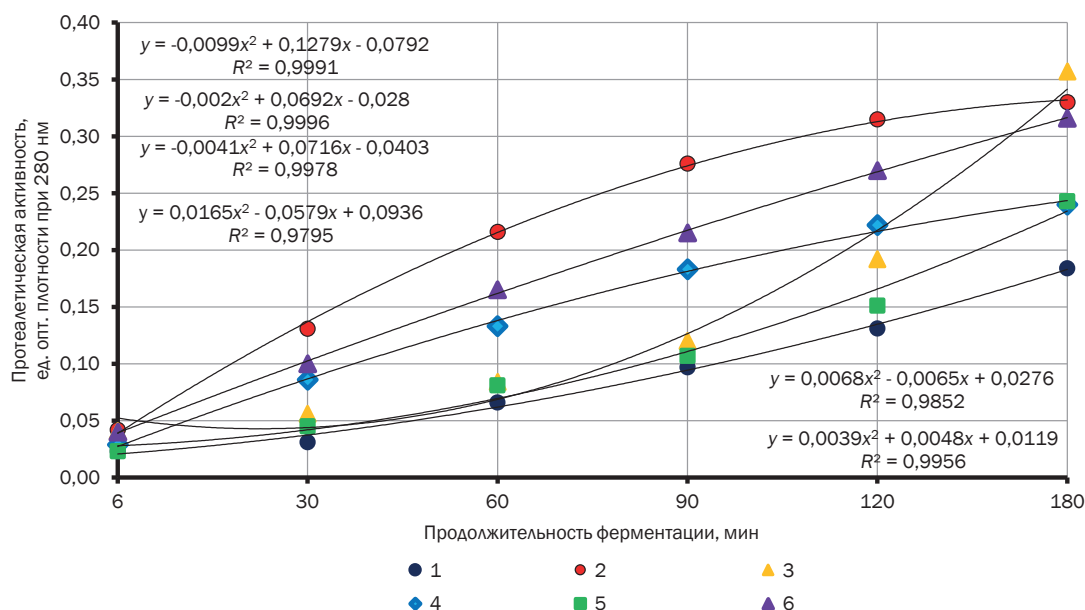


Рис. 3. Протеолитическая активность препаратов сычужного фермента и смесевых композиций:

- 1 – отраслевой контрольный образец сычужного фермента (ОКО СФ) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 2 – сычужно-говяжий фермент ВНИИМС (СГ-50) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 3 – сычужно-говяжий фермент ВНИИМС (СГ-50) ЗАО «КСП», г. Энгельс;
- 4 – сычужный фермент (СФ) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 5 – сычужный фермент (СФ) ЗАО «КСП», г. Энгельс;
- 6 – сычужный порошок (СП) ОАО «Арбина», г. Иваново

Fig. 3. Proteolytic activity of rennet enzyme preparations and mixed compositions:

- 1 – industrial control rennet sample (ОКО СФ), Moscow rennet plant, Moscow;
- 2 – beef rennet, Russian Research Institute of Butter and Cheese Making (СГ-50) Moscow rennet plant, Moscow;
- 3 – beef rennet, Russian Research Institute of Butter and Cheese Making (СГ-50), Special Product Corporation, Engels;
- 4 – rennet (СФ), Moscow rennet plant, Moscow;
- 5 – rennet (СФ), Special Product Corporation, Engels;
- 6 – rennet powder (СП), “Arbina”, Ivanovo

чением. Млекопитающие в неонатальный период не имеют собственных защитных систем и имеют потребность в нативных иммуноглобулинах молозива для защиты от инфекций [11]. Этим обусловлено то, что в МФП, имеющих в своем составе невысокое содержание пепсина, протеолитическая активность незначительна (см. рис. 1).

МФП, содержащие в своем составе 50% пепсина и более, являются менее специфичными и обладают более широким спектром действия. Это объясняет их более высокую протеолитическую активность по сравнению с ОКО СФ и препаратами сычужного фермента (см. рис. 3).

Пепсин специфичен прежде всего к пептидным связям ароматических и объемных алифатических аминокислотных остатков, связям, включающим глутаминовую кислоту и прочее. Оценить степень возрастания протеолитической активности в препаратах пепсинов по сравнению с ОКО СФ можно по результатам рис. 4.

Важно отметить, что препараты с высоким уровнем протеолитической активности не рекомендуется использовать для выработки полутвердых и твердых сыров с длительным сроком созревания. Это может негативным образом повлиять на формирование консистенции (несвязная, мажущаяся) и стать причиной горечи в сыре. Последнее объясняется тем, что образующееся под влиянием пепсинов большое количество горьких соединений не расщепляется молочнокислой микрофлорой

закваски. Это связано с тем, что пептиды, образующиеся в результате действия протеаз МФП на казеин, являются субстратами для протеиназ и пептидаз микрофлоры закваски, под действием которой в сырах образуются вкусовые и ароматические соединения [12–16].

Проведенные нами исследования протеолиза казеина под воздействием МФП показали, что самая низкая протеолитическая активность отмечена у препаратов сычужного фермента, максимальная – у куриного пепсина (см. рис. 3, 4).

В производственной практике важным является понимание вопроса о возможности влияния на молокосвертывающую активность применяемого МФП. Это можно осуществить при изменении температуры, pH, количества CaCl_2 в молочной смеси в пределах, допустимых технологической инструкцией. Тем самым создаются оптимальные условия для действия молокосвертывающего фермента, так как снижается необходимая доза его внесения. В связи с этим актуальным является исследование МФП различного происхождения по показателям зависимости от pH среды, чувствительности к ионам Ca^{2+} и термостабильности. Кроме того, проводили оценку влияния ацетатного буферного раствора (далее по тексту – стабилизирующего) на молокосвертывающую активность и термостабильность МФП.

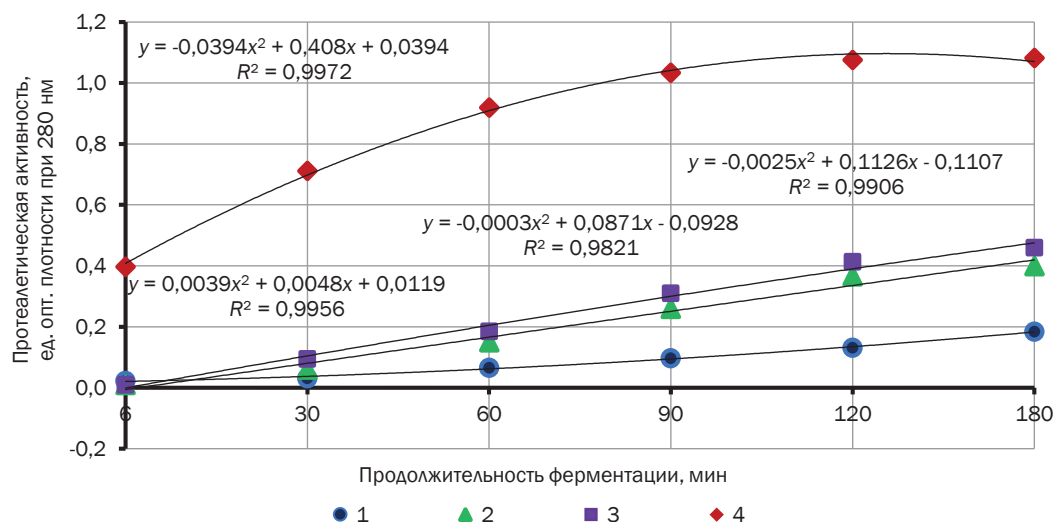


Рис. 4. Протеолитическая активность препаратов пепсина:

- 1 – отраслевой контрольный образец сычужного фермента (ОКО СФ) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 2 – говяжий пепсин (ГП) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 3 – свиной пепсин (СП) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 4 – куриный пепсин (КП) ОАО «МЗСФ», г. Москва

Fig. 4. Proteolytic activity of pepsin preparations:

- 1 – industrial control rennet sample (ОКО СФ), Moscow rennet plant, Moscow;
- 2 – beef pepsin (ГП), Moscow rennet plant, Moscow;
- 3 – pork pepsin (СП), Moscow rennet plant, Moscow;
- 4 – chicken pepsin (КП), Moscow rennet plant, Moscow

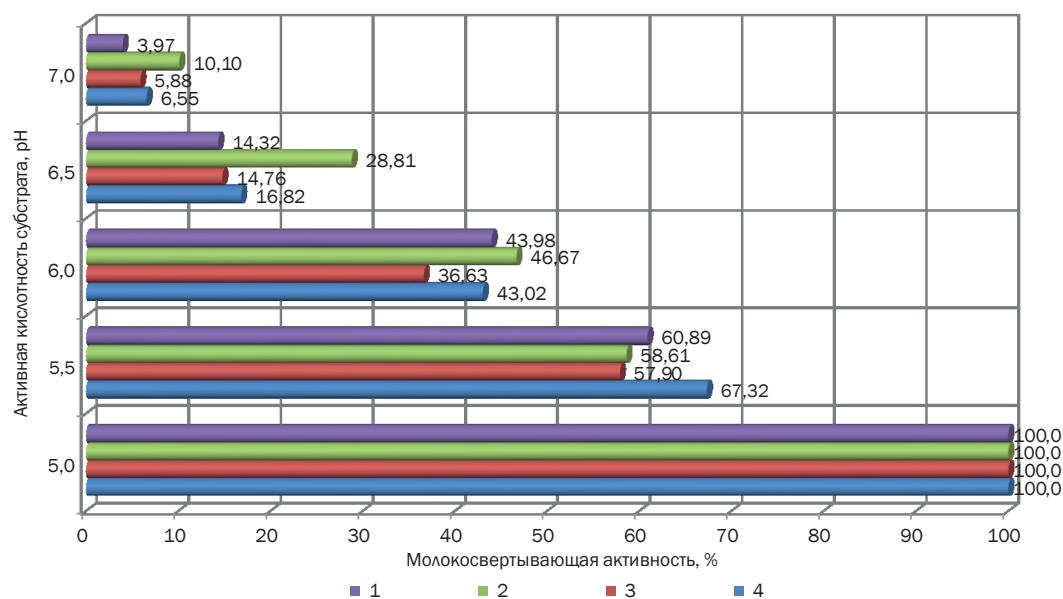


Рис. 5. Влияние концентрации ионов водорода на молокосвертывающую активность молокосвертывающих ферментных препаратов:

- 1 – говяжий пепсин (ГП) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 2 – сычужно-говяжий фермент ВНИИМС (СГ-50) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 3 – сычужный фермент (СФ) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 4 – отраслевой контрольный образец сычужного фермента (ОКО СФ) ОАО «МЗСФ», г. Москва

Fig. 5. Effect of hydrogen ion concentration on the milk-clotting activity of milk-clotting enzyme preparations:

- 1 – beef pepsin (ГП), Moscow rennet plant, Moscow;
- 2 – beef rennet, Russian Research Institute of Butter and Cheese Making (СГ-50) Moscow rennet plant, Moscow;
- 3 – rennet (СФ), Moscow rennet plant, Moscow;
- 4 – industrial control rennet sample (ОКО СФ), Moscow rennet plant, Moscow

Для оценки молокосвертывающей активности МФП при изменении уровня pH и температуры субстрата, а также концентрации в нем Ca^{2+} исследовали МФП животного происхождения с различным количеством пепсина в составе: сычужный фермент (СФ), сычужно-говяжий фермент ВНИИМС (СГ-50) и говяжий пепсин (ГП) производства ОАО «МЗСФ» (г. Москва). В качестве эталонного образца сравнения применяли отраслевой контрольный образец сычужного фермента (ОКО СФ), аттестованный по молокосвертывающей активности.

Известно, что условия pH молочной смеси при выработке сыра смещены за уровень, являющийся оптимальным для проявления ферментом максимальной молокосвертывающей активности. В связи с этим одно из требований к коммерческим МФП заключается в их способности проявлять свои свойства при условиях, не соответствующих таковым *in vivo*. Известно, что максимальная активность химозина проявляется при pH от 3,5 до 5,0, а пепсина – от 1,5 до 2,0. В нашем эксперименте рассматривался интервал активной кислотности от 5,0 до 7,0, который определен условиями, связанными с отдельными этапами производства сыра. Так, на этапе внесения МФП в смесь pH составляет около 6,5. Часть фермента после коагуляции смеси остается в сырном зерне, поэтому важно знать, как проявится их активность при других значениях pH (5,0 – на пике развития заквасочной микрофлоры, 5,5 – на этапе прессования продукта, более 6,0 и 6,5 – в сырах с длительным процессом созревания). Результаты исследования влияния концентрации ионов водорода на продолжительность свертывания молока представлены на рис. 5.

Максимальной молокосвертывающей активности все исследованные молокосвертывающие ферменты достигали при активной кислотности субстрата, равной 5,0. В этой точке активность МФП принимали за 100% (см. рис. 5). Далее при сдвиге pH в сторону понижения кислотности наблюдалось снижение специфической активности (минимальные значения в точке pH 7,0). Молокосвертывающая активность ОКО СФ с pH в точке 5,5 была выше коммерческих образцов исследуемых МФП. Интересно то, что молокосвертывающая активность смесевой композиции 50/50 и говяжьего пепсина при уменьшении pH (точки от 5,5 до 7,0) была выше по сравнению с коммерческим образцом сычужного фермента. Данный факт можно связать с уровнем активной кислотности растворов самих ферментов (сычужного фермента – 3,78, сычужно-говяжий фермент ВНИИМС – 3,28, говяжий пепсин – 3,20), которая в большей степени близка к pH-оптимуму ферментов.

В целом полученные результаты позволяют утверждать, что по рассмотренному технологическому показателю исследуемые МФП соответствуют требованиям, предъявляемым в сыроделии к коагулянтам молока.

Поскольку в Российской Федерации качество молока-сырья по микробиологическим показателям не всегда соответствует высоким требованиям ТР ТС 033/2013³, молоко для выработки сыра подвергается пастеризации. В результате повышения температуры происходит снижение концентрации Ca^{2+} , что влечет за собой увеличение дли-

тельности коагуляции молочной смеси. Согласно технологической схеме, процесс свертывания должен укладываться в четкие временные рамки (30–35 мин), поскольку отклонение в ту или иную сторону неизбежно отразится на качестве сгустка и впоследствии продукта, а также повлечет за собой потери. Чтобы этого избежать, в пастеризованное молоко вносят CaCl_2 из расчета от 0,1 до 0,5 г/л. Важно понимать, что при увеличении концентрации Ca^{2+} в молочной смеси происходит тождественное повышение не только молокосвертывающей активности МФП, но и их протеолитической активности. Учитывая тот факт, что около 6% молокосвертывающих ферментов остается в сырном зерне (по некоторым данным это значение может быть больше), следствием роста протеолитической активности МФП может быть снижение выхода и потребительских свойств сыра. В соответствии с изложенным мы сочли целесообразным произвести оценку молокосвертывающей активности при изменении $[\text{Ca}^{2+}]$ в субстрате.

Полученные результаты показали, что при повышении доли пепсина в составе МФП чувствительность к концентрации ионов Ca^{2+} в молоке возрастает (рис. 6, табл. 1). Поскольку протеолитическая активность смесевой композиции СГ-50 и говяжьего пепсина является высокой по сравнению с сычужным ферментом, чрезмерное внесение CaCl_2 (выше 0,2–0,3 г/л) неизбежно приведет к избыточному протеолизу в сырах и, как следствие, горечи, порокам консистенции. Говяжий пепсин при производстве сыров с созреванием сырной массы не применяется, но при использовании смесевых композиций 50/50 это важно учитывать.

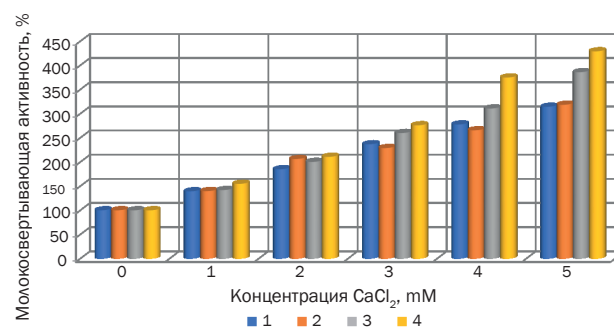


Рис. 6. Влияние концентрации ионов кальция на молокосвертывающую активность молокосвертывающих ферментных препаратов:
 1 – отраслевой контрольный образец сычужного фермента (ОКО СФ) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
 2 – сычужный фермент (СФ) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
 3 – сычужно-говяжий фермент ВНИИМС (СГ-50) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
 4 – говяжий пепсин (ГП) ОАО «МЗСФ», г. Москва

Fig. 6. Effect of calcium concentration in milk on the milk-coagulating activity of milk-coagulating enzyme preparations:
 1 – industrial control rennet sample (ОКО СФ), Moscow rennet plant, Moscow;
 2 – rennet (СФ), Moscow rennet plant, Moscow;
 3 – beef rennet, Russian Research Institute of Butter and Cheese Making (СГ-50) Moscow rennet plant, Moscow;
 4 – beef pepsin (ГП), Moscow rennet plant, Moscow

³Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013) // Docs. cntd.ru. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/499050562> (дата обращения 17.02.2026).

Таблица 1. Зависимость молокосвертывающей активности молокосвертывающих ферментных препаратов от концентрации ионов кальция

Table 1. Dependence of the milk-converting activity of milk-converting enzyme preparations on calcium concentration in milk

Препарат	Концентрация CaCl ₂ , mM					
	0	1	2	3	4	5
Отраслевой контрольный образец	100	139,23±1,85	184,92±3,27	236,66±0,01	277,58±11,38	314,20±5,50
Сычужный фермент	100	139,62±0,01	206,21±4,23	228,81±7,6	265,55±12,03	318,36±5,03
Сычужно-говяжий фермент	100	141,95±6,78	200,15±8,72	259,94±0,01	310,70±16,96	385,81±0,01
Говяжий пепсин	100	154,80±2,62	210,66±2,43	275,96±0,01	374,81±7,82	429,03±10,25

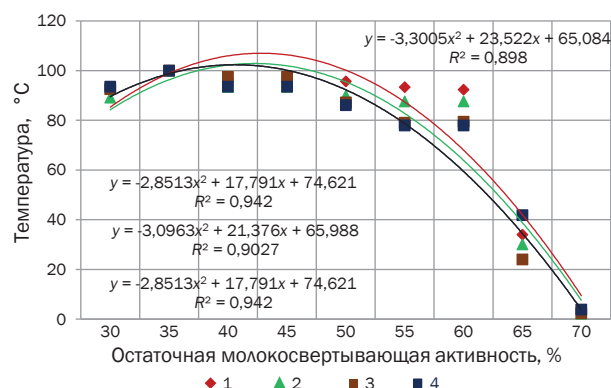


Рис. 7. Термостабильность молокосвертывающих ферментных препаратов:

- 1 – отраслевой контрольный образец сычужного фермента (ОКО СФ) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 2 – сычужный фермент (СФ) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 3 – сычужно-говяжий фермент ВНИИМС (СГ-50) ОАО «МЗСФ», г. Москва;
- 4 – говяжий пепсин (ГП) ОАО «МЗСФ», г. Москва

Fig. 7. Thermal stability of milk-converting enzyme preparations:

- 1 – industrial control rennet sample (ОКО СФ), Moscow rennet plant, Moscow;
- 2 – rennet (СФ), Moscow rennet plant, Moscow;
- 3 – beef rennet, Russian Research Institute of Butter and Cheese Making (СГ-50) Moscow rennet plant, Moscow;
- 4 – beef pepsin (ГП), Moscow rennet plant, Moscow

Термостабильность МФП – это диапазон температур, при котором сохраняется активность фермента. Порог термостабильности МФП – температура, при которой фермент теряет не более 20% от исходной молокосвертывающей активности.

Анализ полученных данных показал, что температурный оптимум изученных МФП находился в диапазоне от 35 до 40 °C (рис. 7, табл. 2). Специфическая активность эталонного образца ОКО СФ и коммерческого образца сычужного фермента являлась стабильной в интервале от 35 до 55 °C. В образцах натуральных МФП наблюдалась закономерность снижения термостабильности при повышении доли пепсина в составе препарата; порога термоинактивации МФП отечественного производства достигали в точке от 55 до 60 °C.

Таким образом, проведенные исследования показали, что МФП отечественных производителей соответствуют требованиям, предъявляемым к ним сыродельной отрасли.

На сегодняшний день можно с уверенностью заявить, что развитие отрасли осуществляется успешно и объемы продаж с каждым годом нарастают уверенными темпами, о чем свидетельствует динамика рынка за последнее десятилетие (рис. 8). С 2014 года после введения Российской Федерацией эмбарго сыродельная отрасль расширяет объемы производства [17–19].

Вследствие роста объемов производства сычужных сыров в России увеличивается потребность в МФП [19, 20]. Несмотря на это, к сожалению, мы вынуждены констатировать факт, что отечественные предприятия по производству МФП не выдерживают конкурентной борьбы с иностранными компаниями, занимающими в настоящее

Таблица 2. Зависимость остаточной молокосвертывающей активности молокосвертывающих ферментных препаратов от температуры

Table 2. Dependence of the residual milk-converting activity of milk-converting enzyme preparations on temperature

Препарат	Остаточная молокосвертывающая активность, %								
	30	35	40	45	50	55	60	65	70
Отраслевой контрольный образец	92,50±1,47	100	96,56±0,01	96,56±0,01	95,63±0,91	93,38±1,75	92,31±2,27	34,02±0,20	2,67±0,05
Сычужный фермент	89,12±0,73	100	93,43±1,39	93,43±1,39	89,91±2,58	87,65±0,01	87,65±0,87	30,09±0,22	2,08±0,03
Сычужно-говяжий фермент	92,59±0,01	100	97,44±2,51	97,44±2,51	87,23±2,01	79,07±4,39	79,45±2,52	24,04±0,26	2,32±0,10
Говяжий пепсин	93,54±1,08	100	93,54±1,08	93,56±2,13	86,13±1,78	77,95±1,30	77,93±0,55	41,84±0,22	3,84±0,13

время подавляющую долю рынка (рис. 9). Так, долгое время лидирующий среди российских предприятий на отечественном рынке ОАО «МЗСФ» на сегодняшний день прекратил свое существование.



Рис. 8. Объем производства продуктов сыродельной отрасли в России

Fig. 8. The volume of rennet cheese production in Russia

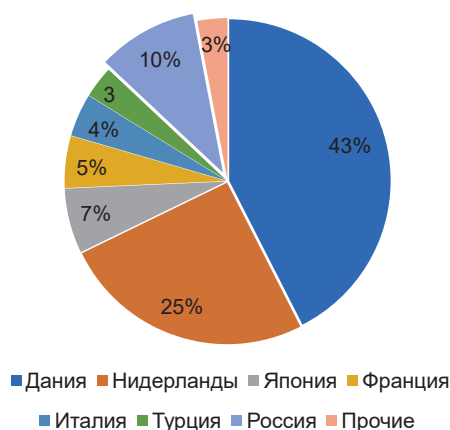


Рис. 9. Распределение производителей в структуре рынка молокосвертывающих ферментных препаратов

Fig. 9. Share of imported milk coagulants in the structure of the MFP market in the Russian Federation

Анализ отечественного рынка показывает, что около 90% ферментных препаратов приходится на долю импортных МФП (см. рис. 9). В связи с этим складывается мнение о том, что проблема развития производства МФП в нашей стране является одной из самых острых и требует своего решения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования по изучению качественного состава, протеолитической активности, зависимости от присутствия ионов кальция, pH, устойчивости к повышению температуры – свойств, играющих важную роль в процессе свертывания молочной смеси как одного из важных этапов в производстве сыра, показали, что отечественные МФП соответствуют требованиям сыродельной отрасли.

Соотношение активных компонентов (пепсина и химозина) в составе исследованных препаратов сычужного фермента и пепсинов соответствует требованиям. Более того, препарат говяжьего пепсина содержал достаточно высокое количество химозина (29,5%). Тем не менее препараты смесевых композиций не соответствовали указанным выше требованиям, в них наблюдалось отклонение от установленного по стандарту соотношения (50:50).

Исследования протеолиза казеина под воздействием МФП показали, что самая низкая протеолитическая активность отмечена у препаратов сычужного фермента, максимальная – у куриного пепсина. Протеолитическая активность важна с точки зрения влияния на созревание сыра, формирования вкуса и аромата продукта. В зависимости от ассортимента вырабатываемой продукции производитель может выбрать препараты с меньшей (содержащей не более 30% пепсина) или большей (содержащей 50% пепсина и более) протеолитической активностью. Так, для сыров с высокой температурой созревания предпочтительнее ферменты с низким содержанием пепсина.

Данные исследований по влиянию pH на специфический протеолиз (молокосвертывающую активность) ферментов показали, что активность всех МФП достигала максимума при активной кислотности субстрата, равной 5,0. Далее при сдвиге pH в сторону понижения кислотности наблюдалось снижение специфической активности. Минимальные значения активности наблюдали в точке pH 7,0.

Полученные результаты показали, что при повышении доли пепсина в составе МФП чувствительность к концентрации ионов Ca^{2+} в молоке возрастает.

Анализ полученных данных показал, что температурный оптимум изученных МФП находился в диапазоне от 35 до 40 °C. В образцах натуральных МФП наблюдалась закономерность снижения термостабильности при повышении доли пепсина в составе препарата. Порога термоинактивации МФП отечественного производства достигали в точке 55–60 °C.

Важным является тот факт, что отечественные предприятия по производству МФП не выдерживают конкурентной борьбы с иностранными компаниями, занимающими в настоящее время подавляющую долю рынка. Согласно статистическим данным, доля рынка отечественных предприятий по производству МФП составляет не более 10%. Вероятной причиной низкой доли рынка, помимо маркетинговых и логистических факторов, может являться нестабильность качественного состава некоторых смесевых препаратов (как показано на рис. 2 для СГ-50), что снижает их привлекательность для производителей, ориентированных на строго стандартизированные технологические процессы. На наш взгляд, проблема развития производства МФП в России является одной из самых острых и требует своего решения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Швабска О.Б., Карамнова Н.С., Измайлова О.В. Здоровое питание: новые рационы для индивидуального использования // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2020. Т. 16. N 6. С. 958–965.

DOI: 10.20996/1819-6446-2020-12-12. EDN: LYZZUG.

2. Сухова А.В., Лапко И.В., Преображенская Е.А. Гигиенические основы здорового питания трудоспособного населения (обзор литературы) // Гигиена и санитария.

2024. Т. 103. N 12. С. 1521–1527. DOI: 10.47470/0016-9900-2024-103-12-1521-1527. EDN: XXQNKA.

3. Абрамов Д.В., Мяконосов Д.С., Овчинникова Е.Г., Муничева Т.Э. Исследование критериальной оценки молокосвертывающих ферментных препаратов различного происхождения по их влиянию на формирование показателей качества и хранимостепособность отдельных групп сыров // Современные тренды в производстве, потреблении и контроле сыра, масла и другой молочной продукции: материалы Междунар. науч.-практ. конф. (г. Углич, 18–20 июня 2024 г.). Углич: Изд-во ВНИИМС, 2024. С. 114–119. EDN: DTLAQ.

4. Каверзнева Е.Д. Стандартный метод определения протеолитической активности для комплексных препаратов протеаз // Прикладная биохимия и микробиология. 1971. Т. 7. N 2. С. 225–228.

5. Стурова Ю.Г., Гришкова А.В., Коншин В.В., Просеков А.Ю. Влияние физико-химических факторов на специфическую активность протеаз, применяемых в биотехнологии сыров // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2024. Т. 14. N 3. С. 352–361. DOI: 10.21285/achb.935. EDN: GEWFBW.

5. Sturova Yu.G., Grishkova A.V., Konshin V.V., Prosekov A.Yu. Influence of physicochemical factors on the specific activity of proteases used in cheesemaking biotechnology. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(3):352-361. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.935. EDN: GEWFBW.

6. Мяконосов Д.С., Абрамов Д.В., Делицкая И.Н., Овчинникова Е.Г. Протеолитическая активность молокосвертывающих ферментов разного происхождения // Пищевые системы. 2022. Т. 5. N 1. С. 47–54. DOI: 10.21323/2618-9771-2022-5-1-47-54. EDN: FKAQJB.

7. Мяконосов Д.С., Мордвинова В.А., Абрамов Д.В., Овчинникова Е.Г., Муничева Т.Э. Технологические свойства молокосвертывающих ферментов разного происхождения. Часть II. Влияние вида используемого МФП на процессы протеолиза при созревании сыров // Сыроделие и маслоделие. 2020. N 5. С. 10–13. DOI: 10.31515/2073-4018-2020-5-10-13. EDN: SHDDGB.

8. Chen C.-C., Chen L.-Y., Li W.-T., Chang K.-L., Kuo M.-I., Chen C.-J., et al. Influence of chymosin on physicochemical and hydrolysis characteristics of casein micelles and individual caseins // *Nanomaterials*. 2021. Vol. 11, no. 10. P. 2594. DOI: 10.3390/nano11102594.

9. Wilkinson M.G., Doolan I.A., Kilcawley K.N. Enzyme-modified cheese // *Encyclopedia of dairy sciences* / eds McSweeney P.L.H., McNamara J.P. Academic Press, 2022. P. 166–171. DOI: 10.1016/B978-0-12-818766-1.00260-9.

10. Лепилкина О.В., Григорьева А.И. Ферментативный протеолиз при преобразовании молока в сыр // Пищевые системы. 2023. Т. 6. N 1. С. 36–45. DOI: 10.21323/2618-9771-2023-6-1-36-45. EDN: MYSJFF.

11. Гудков А.В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты. М.: ДеЛи принт, 2004. 803 с.

12. Белов А.Н., Ельчанинов В.В., Коваль А.Д. Молокосвертывающие препараты // Сыроделие и маслоделие. 2004. N 1. С. 14–16. EDN: QCBLBD.

13. Белов А.Н., Коваль А.Д., Авданина Е.А., Ельчанинов В.В. Влияние молокосвертывающего препарата на органолептические показатели сыра // Сыроделие и маслоделие. 2009. N 1. С. 22–24. EDN: KZQVED.

14. Ardö Y., McSweeney P.L.H., Magboul A.A.A., Uppadhyay V.K., Fox P.F. *Biochemistry of cheese ripening: proteolysis* // Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology / eds P.L.H. McSweeney, P.F. Fox, P.D. Cotter, D.W. Everett. Academic Press, 2017. P. 445–482. DOI: 10.1016/B978-0-12-417012-4.00018-1.

15. Ardö Y. Enzymes in cheese ripening // *Food engineering series* / eds A.L. Kelly, L.B. Larsen. Cham: Springer, 2021. P. 363–395. DOI: 10.1007/978-3-030-55482-8_15.

16. Лепилкина О.В., Григорьева А.И. Ферментативный протеолиз при преобразовании молока в сыр // Пищевые системы. 2023. Т. 6. N 1. С. 36–45. DOI: 10.21323/2618-9771-2023-6-1-36-45. EDN: MYSJFF.

17. Мусина О.Н., Гришкова А.В., Просеков А.Ю. К вопросу о самообеспеченности страны молокосвертывающими ферментами // Молочная промышленность. 2024. N 1. С. 24–27. DOI: 10.21603/1019-8946-2024-1-10. EDN: KINKYI.

18. Абрамов Д.В., Мяконосов Д.С., Делицкая И.Н., Мордвинова В.А., Муничева Т.Э., Овчинникова Е.Г. Перспективы применения комплексных МФП для производства созревающих сычужных сыров // Сыроделие и маслоделие. 2019. N 1. С. 24–26. DOI: 10.31515/2073-4018-2019-1-24-26. EDN: YYIWT.

19. Абрамов Д.В., Мяконосов Д.С., Мордвинова В.А., Делицкая И.Н., Овчинникова Е.Г. Современные тенденции рынка молокосвертывающих ферментных препаратов // Сыроделие и маслоделие. 2018. N 6. С. 7–11. EDN: YZKXZR.

20. Мяконосов Д.С., Абрамов Д.В., Мордвинова В.А., Муничева Т.Э., Овчинникова Е.Г. Обзор российского рынка молокосвертывающих препаратов и перспективы его развития // Сыроделие и маслоделие. 2019. N 2. С. 11–13. DOI: 10.31515/2073-4018-2019-2-11-13. EDN: YZOYKD.

REFERENCES

1. Shvabskaia O.B., Karamnova N.S., Izmailova O.V. Healthy diet: new ration for individual use. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2020;16(6):958-965. (In Russian). DOI: 10.20996/1819-6446-2020-12-12. EDN: LYZZUG.

2. Sukhova A.V., Lapko I.V., Preobrazhenskaya E.A. Hygienic principles of healthy nutrition in the able-bodied population (literature review). *Hygiene and Sanitation*. 2024;103(12):1521-1527. (In Russian). DOI: 10.47470/0016-9900-2024-103-12-1521-1527. EDN: XXQNKA.

3. Abramov D.V., Myagkonosov D.S., Ovchinnikova E.G., Municheva T.Eh. Criterion assessment of milk-converting

enzyme preparations of various origins according to their effect on the formation of quality indicators and the storage capacity of individual groups of cheeses. In: *Modern trends in the production, consumption and control of cheese, butter and other dairy products: Proc. Int. Sci. Pract. Conf.* 18–20 June 2024, Uglich. Uglich: Russian Research Institute of Butter and Cheese Making; 2024, p. 114–119. (In Russian). EDN: DTLAQ.

4. Kaverzneva E.D. Standard method for determining proteolytic activity for complex protease preparations. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 1971;7(2):225-228. (In Russian).

5. Sturova Yu.G., Grishkova A.V., Konshin V.V., Prosekov A.Yu. Influence of physicochemical factors on the specific activity of proteases used in cheesemaking biotechnology. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(3):352-361. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.935. EDN: GEWFBW.
6. Myagkonosov D.S., Abramov D.V., Delitskaya I.N., Ovchinnikova E.G. Proteolytic activity of milk-clotting enzymes of different origin. *Food systems*. 2022;5(1):47-54. (In Russian). DOI: 10.21323/2618-9771-2022-5-1-47-54. EDN: FKAQJB.
7. Myagkonosov D.S., Mordvinova V.A., Abramov D.V., Ovchinnikova E.G., Municheva T.E. Technological properties of milk clotting enzymes of different origin. Part II. influence of the type of milk clotting enzyme used on proteolysis processes during cheese ripening. *Cheesemaking and buttermaking*. 2020;5:10-13. (In Russian). DOI: 10.31515/2073-4018-2020-5-10-13. EDN: SHDDGB.
8. Chen C.-C., Chen L.-Y., Li W.-T., Chang K.-L., Kuo M.-I., Chen C.-J., et al. Influence of chymosin on physicochemical and hydrolysis characteristics of casein micelles and individual caseins. *Nanomaterials*. 2021;11(10):2594. DOI: 10.3390/nano11102594.
9. Wilkinson M.G., Doolan I.A., Kilcawley K.N. Enzyme-modified cheese. In: McSweeney P.L.H., McNamara J.P. (eds). *Encyclopedia of dairy sciences*. Academic Press; 2022, p. 166-171. DOI: 10.1016/B978-0-12-818766-1.00260-9.
10. Lepilkina O.V., Grigorieva A.I. Enzymatic proteolysis during the conversion of milk into cheese. *Food Systems*. 2023;6(1):36-45. (In Russian). DOI: 10.21323/2618-9771-2023-6-1-36-45. EDN: MYSJFF.
11. Gudkov A.V. *Cheese making: technological, biological and physico-chemical aspects*. Moscow: DeLi print; 2004, 803 с. (In Russian).
12. Belov A.N., Elchaninov V.V., Koval A.D. Milk clotting preparations. *Cheesemaking and buttermaking*. 2004;1:14-16. (In Russian). EDN: QCBLBD.
13. Belov A.N., Koval' A.D., Avdanina E.A., El'chaninov V.V. Effects of milk clotting preparation on cheese organoleptic indices. *Cheesemaking and buttermaking*. 2009;1:22-24. (In Russian). EDN: KZQVED.
14. Ardö Y., McSweeney P.L.H., Magboul A.A.A., Upadhyay V.K., Fox P.F. Biochemistry of cheese ripening: proteolysis. In: McSweeney P.L.H., Fox P.F., Cotter P.D., Everett D.W. *Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology*. Academic Press; 2017, p. 445-482. DOI: 10.1016/B978-0-12-417012-4.00018-1.
15. Ardö Y. Enzymes in cheese ripening. In: Kelly A.L., Larsen L.B. (eds). *Food engineering series*. Cham: Springer; 2021; p. 363-395. DOI: 10.1007/978-3-030-55482-8_15.
16. Lepilkina O.V., Grigorieva A.I. Enzymatic proteolysis during the conversion of milk into cheese. *Food Systems*. 2023;6(1):36-45. (In Russian). DOI: 10.21323/2618-9771-2023-6-1-36-45. EDN: MYSJFF.
17. Musina O.N., Grishkova A.V., Prosekov A.Yu. Domestic self-sufficiency in milk-converting enzymes. *Dairy industry*. 2024;1:24-27. (In Russian). DOI: 10.21603/1019-8946-2024-1-10. EDN: KINKYI.
18. Abramov D.V., Myagkonosov D.S., Delitskaya I.N., Mordvinova V.A., Municheva T.E., Ovchinnikova E.G. Perspectives of using complex milk-clotting enzyme preparations for ripening rennet cheeses production. *Cheesemaking and buttermaking*. 2019;1:24-26. (In Russian). DOI: 10.31515/2073-4018-2019-1-24-26. EDN: YYIWT.
19. Abramov D.V., Myagkonosov D.S., Mordvinova V.A., Delitskaya I.N., Ovchinnikova E.G. Current market trends of milk-coagulating enzyme preparations. *Cheesemaking and buttermaking*. 2018;6:7-11. (In Russian). EDN: YZKXZR.
20. Myagkonosov D.S., Abramov D.V., Mordvinova V.A., Municheva T.E., Ovchinnikova E.G. Review of the Russian market of milk clotting preparations and prospects of its development. *Cheesemaking and buttermaking*. 2019;2:11-13. (In Russian). DOI: 10.31515/2073-4018-2019-2-11-13. EDN: YZOYKD.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Гришкова Анастасия Викторовна,

д.б.н., к.т.н., доцент,
ведущий научный сотрудник,
Федеральный Алтайский научный
центр агробиотехнологий,
656016, г. Барнаул, ул. Советской армии, 66,
Российская Федерация,
доцент,
Алтайский государственный
медицинский университет,
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40,
Российская Федерация,
ведущий научный сотрудник,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 46,
Российская Федерация,
anastasiya-kriger@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1117-0489>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Anastasiya V. Grishkova,

Dr. Sci. (Biology), Cand. Sci. (Engineering),
Associate Professor,
Leading Researcher,
Federal Altai Scientific Center for Agrobiotechnology,
66, Sovetskoi Armii St., Barnaul, 656016,
Russian Federation,
Associate Professor,
Altai State Medical University,
40, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
Leading Researcher,
Polzunov Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
anastasiya-kriger@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1117-0489>

Стурова Юлия Геннадьевна,
к.т.н., доцент, старший научный сотрудник,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 46,
Российская Федерация,
✉ y_sturova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4492-6628>

Коваль Анатолий Дмитриевич,
к.т.н., ведущий научный сотрудник,
Федеральный Алтайский научный
центр агrobiотехнологий,
656016, г. Барнаул, ул. Советской армии, 66,
Российская Федерация,
anatokoval@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-7832-7159>

Мусина Ольга Николаевна,
д.т.н., доцент, главный научный сотрудник,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 46,
Российская Федерация,
musinaolga@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4938-8136>

Yuliay G. Sturova,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Senior Researcher,
Polzunov Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
✉ y_sturova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4492-6628>

Anatoliy D. Koval,
Cand. Sci. (Engineering), Leading Researcher,
Federal Altai Scientific Center for Agrobiotechnology,
66, Sovetskoi Armii St., Barnaul, 656016,
Russian Federation,
anatokoval@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-7832-7159>

Olga N. Musina,
Dr. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Chief Researcher,
Polzunov Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
musinaolga@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4938-8136>

Вклад авторов

А.В. Гришкова – разработка концепции,
разработка методологии, проведение
исследования, валидация результатов,
визуализация, написание черновика рукописи.
Ю.Г. Стурова – валидация результатов,
визуализация, редактирование рукописи.
А.Д. Коваль – валидация результатов,
написание черновика рукописи.
О.Н. Мусина – получение финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 03.06.2025.
Одобрена после рецензирования 20.10.2025.
Принята к публикации 26.02.2026.

Contribution of the authors

Anastasiya V. Grishkova – conceptualization,
methodology, investigation, validation,
visualization, writing – original draft.
Yuliay G. Sturova – validation,
visualization, editing.
Anatoliy D. Koval – validation,
writing – original draft.
Olga N. Musina – funding acquisition.

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 03.06.2025.
Approved after reviewing 20.10.2025.
Accepted for publication 26.02.2026.



Определение степени упорядоченности липидов микродоменов хлоропластов листьев пшеницы в условиях почвенной засухи

И.С. Капустина*, В.В. Гурина*, Е.В. Спиридонова*✉,
Н.В. Озолина*, Т.В. Липчанская*, А.В. Третьякова**

*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Российская Федерация

**Иркутский государственный университет, Иркутск, Российская Федерация

Аннотация. Целью исследования являлось определение степени упорядоченности липидного матрикса микродоменов хлоропластов листьев двух сортов (засухоустойчивый сорт – Бурятская остистая, чувствительный к влаге сорт – Диамант 2) пшеницы в контрольных условиях и условиях длительного дефицита воды (10 дней). Упорядоченность липидов оценивали по значениям генерализованной поляризации, которые получали при помощи липофильного зонда – лаурдана. Стресс оценивали по уровню активных форм кислорода. Отмечено, что у обоих сортов в контроле происходило увеличение значений генерализованной поляризации в рафтах первой зоны (P1), тогда как в рафтах второй зоны (P2) у устойчивого сорта эта величина не изменялась, а у неустойчивого к дефициту влаги сорта снижалась на 4-й и 10-й день по сравнению с 1-м днем. В условиях засухи значения генерализованной поляризации в P1 у устойчивого сорта снижались на 4-й и 10-й день. Снижение генерализованной поляризации отмечено и в P2 – особенно заметно оно также на 4-й день. Увеличение значений генерализованной поляризации происходило в микродоменах обеих зон сорта Диамант 2 за исключением 7-го дня, когда было отмечено снижение микровязкости. Таким образом, изменения микровязкости, выявленные в липидах исследуемых микродоменов как в контроле, так и в условиях стресса, позволяют предположить, что микродомены мембран хлоропластов листьев пшеницы могут не только быть задействованы в ответных реакциях клетки на стрессовое воздействие, но и, возможно, принимать участие в других физиолого-биохимических процессах.

Ключевые слова: хлоропласты, липиды, микродомены, генерализованная поляризация, засуха

Благодарности. Авторы выражают благодарность кандидату биологических наук В.Н. Нурминскому (Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск, Россия) за помощь при подготовке текста настоящей статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН № 0277-2022-0005 на оборудовании Центра коллективного пользования «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск, Россия).

Для цитирования: Капустина И.С., Гурина В.В., Спиридонова Е.В., Озолина Н.В., Липчанская Т.В., Третьякова А.В. Определение степени упорядоченности липидов микродоменов хлоропластов листьев пшеницы в условиях почвенной засухи // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 52–60. DOI: 10.21285/achb.1018. EDN: BSIFGL.

Determination of lipid ordering in chloroplast microdomains of wheat leaves under soil drought conditions

Irina S. Kapustina*, Veronica V. Gurina*, Ekaterina V. Spiridonova*✉,
Natalia V. Ozolina*, Tatyana V. Lipchanskaya*, Anastasiya V. Tret'yakova**

*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russian Federation

**Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The degree of lipid matrix ordering in the chloroplast microdomains of leaves from two wheat cultivars – a drought-tolerant Buryatskaya Ostistaya and a moisture-sensitive Diamant 2 – was studied under control conditions and under prolonged water deficit (10 days). Lipid ordering was assessed based on generalized polarization values obtained using the Laurdan lipophilic probe. Stress intensity was evaluated according to the level of reactive oxygen species. Under control conditions, both cultivars showed an increase in the generalized polarization values in rafts of zone 1 (R1). In contrast, in rafts of zone 2 (R2), this parameter remained unchanged in the drought-tolerant cultivar, whereas in the moisture-sensitive cultivar it decreased on days 4 and 10 relative to day 1. Under drought conditions, the generalized polarization values in R1 of the tolerant cultivar decreased on days 4 and 10. A decrease in generalized polarization was also observed in R2, with the most pronounced reduction occurring on day 4. An increase in the generalized polarization values was observed in the microdomains of both zones in Diamant 2, except on day 7, when a decrease in microviscosity was recorded. Hence, the microviscosity changes detected in the lipids of the studied microdomains, under both control and stress conditions, suggest that chloroplast membrane microdomains in wheat leaves may not only be involved in cellular responses to stress, but may also participate in other physiological and biochemical processes.

Keywords: chloroplasts, lipids, microdomains, generalized polarization, drought

Acknowledgments. The authors express their gratitude to V.N. Nurminsky, Cand. Sci. (Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia) for his assistance in preparing the text of this article.

Funding. The work was carried out within the framework of the state assignment of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences no. 0277-2022-0005 on the equipment of the Bioanalytics Collective Use Center of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Irkutsk, Russia).

For citation: Kapustina I.S., Gurina V.V., Spiridonova E.V., Ozolina N.V., Lipchanskaya T.V., Tret'yakova A.V. Determination of lipid ordering in chloroplast microdomains of wheat leaves under soil drought conditions. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):52-60. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1018. EDN: BSIFGL.

ВВЕДЕНИЕ

Засуха оказывает значимый отрицательный эффект на развитие растений [1]. Ответная реакция растений зависит от интенсивности и продолжительности стресса, генотипа растения, стадии развития и экологических факторов, обуславливающих стресс. Лучшее понимание механизмов, позволяющих растениям адаптироваться и обеспечивать рост и продуктивность во время стресса, важно для развития новых стратегий в селекции устойчивых генотипов посредством генетических манипуляций [2]. Адаптивные возможности растений в значительной степени зависят от того, насколько они способны сохранять текучесть мембран и предотвращать фазовый переход липидов при действии стрессоров [3]. В условиях стресса биологические мембраны меняют свои свойства, что отражается на их биофизических параметрах. Важным показателем физико-химического состояния биологических мембран

является микровязкость их липидного матрикса. Данный показатель определяет работу многочисленных мембраносвязанных ферментных комплексов, в том числе компонентов сигнальных систем, запускающих ответные реакции на стресс и адаптационные процессы. Известно, что биологические мембраны неоднородны по своей структуре, в них имеются более упорядоченные, плотно упакованные области, именуемые липидными рафтами, или микродоменами [4]. Микродомены высокодинамичны, они быстро образуются и также быстро распадаются в зависимости от функций, выполняемых мембраной [5]. Показано, что бислойная липидная мембрана обладает транслатеральной асимметрией и рафты могут существовать независимо друг от друга во внешнем и внутреннем листах биомембраны [4]. Доказано, что рафтовые структуры принимают участие во многих клеточных процессах, таких как передача сигнала, эндоцитоз, импорт дезоксирибонуклеиновых

кислот, участие в механизмах защиты растений от неблагоприятных факторов [6]. Таким образом, сумма новых знаний и экспериментальных наработок в этой области мембранологии, полученных в последнее время, позволяет считать, что рафтовые липидные домены являются одним из принципов, организующих функционирование биологических мембран [7].

Мембраны хлоропластов интересны тем, что они задействованы в процессе фотосинтеза и выполняют множество разных функций, от которых, в частности, зависит урожайность сельскохозяйственных зерновых культур [8]. Известно, что мембранные белки особенно важны для функционирования фотосинтетического аппарата. В свою очередь, функционирование мембранных белков зависит от липидного матрикса, в который они погружены, и изменения в физических свойствах основных мембранных липидов могут оказывать влияние на структуру и функции белковых комплексов хлоропластов [2]. В настоящее время доказано, что белки были обнаружены в составе липидных рафтов [9]. Ранее нами было показано наличие двух видов микродоменов в мембранах хлоропластов пшеницы [10]. Оценка вязкости липидных микродоменов в условиях стресса может способствовать пониманию фундаментальных механизмов стрессовой устойчивости растений. Целью данной работы являлось изучение степени упорядоченности липидного матрикса микродоменов мембран хлоропластов листьев устойчивого (Бурятская остистая) и чувствительного (Диамант 2) к дефициту влаги сортов пшеницы в условиях почвенной засухи.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектами исследования являлись два сорта мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.): устойчивый к засухе сорт Бурятская остистая и чувствительный к влаге сорт Диамант 2, которые были выращены в контролируемых условиях климатической камеры CLF PlantMaster (CLF Plant Climatics GmbH, Германия), установленной на фитотроне Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск, Россия). В качестве субстрата использовали почву (смесь перегноя, песка и торфа в соотношении 1:1:1). В камере поддерживался 16-часовой фотопериод с интенсивностью света 300 мкМоль (фотон)/м²×с⁻¹, дневной/ночной температурой 23/16 °С и относительной влажностью 60%. Для каждого сорта одну группу растений поддерживали в состоянии оптимального влагообеспечения 60% от полной влагоемкости почвы (контроль), тогда как во второй группе растений начиная со стадии трех листьев полив ограничивали до тех пор, пока содержание воды в почве не снизится до 30% от полной влагоемкости почвы (водный дефицит или засуха). Уровень воды в почве поддерживали весовым методом. Отбор листьев проводили в разные дни продолжительности засухи: 1-й день, 4-й, 7-й и 10-й дни ограничения полива. Образцы листьев пшеницы полностью срезали с растения и замораживали в жидком азоте.

Хлоропласты типа В (неразрушенные хлоропласты) получали с помощью метода дифференциального

центрифугирования [11]. Контроль чистоты фракций хлоропластов и оценку их интактности проводили с использованием инвертированного биологического микроскопа Axio observer Z1 (Carl Zeiss, Германия).

Определение количества активных форм кислорода (АФК) проводили при помощи 2',7'-дихлорофлуоресцеин диацетата (H₂DCF-DA). Флуоресценцию образовавшегося DCF измеряли на спектрофлуориметре RF-5301 PC (Shimadzu, Япония). Для возбуждения флуоресценции DCF использовали свет с длиной волны 480 нм, испускание регистрировали на длине волны 524 нм. Содержание АФК рассчитывали в относительных единицах на миллиграмм белка [12]. Количество белка в полученных образцах определяли методом Бредфорда [13].

Выделение липидных рафтов из суспензии хлоропластов проводили по модифицированному нами методу. После центрифугирования в области 5 и 15% градиента сахарозы были выявлены две опалесцирующие зоны. Показано, что обе зоны относятся к липидным рафтам [10]. В связи с этим для настоящего исследования были взяты обе опалесцирующие зоны: зона 1 (P1; 5%) и зона 2 (P2; 15%). Эти градиенты собирали и хранили во фризере при минус 80 °С до начала проведения экспериментов.

Степень упорядоченности липидного бислоя оценивали с помощью липофильного зонда – лаурдана (2-диметиламино-6-додеканоилнафталин). Применение этого зонда обусловлено тем, что положение максимумов его экстинкции и эмиссии определяется соотношением жидко- и твердофазных доменов в мембране, которое обычно оценивается по генерализованной поляризации (ГП) флуоресценции лаурдана $G_{Pex} = (I_{440} - I_{490}) / (I_{440} + I_{490})$, где I_{440} и I_{490} – интенсивность флуоресценции лаурдана при 440 и 490 нм соответственно. Величины ГП ниже +0,25 соответствуют неупорядоченным жидкофазным доменам, а выше +0,5 – упорядоченным твердофазным [14]. Концентрация лаурдана должна быть достаточно низка, чтобы, с одной стороны, не было влияния на ацильные цепи липидов в мембране, а с другой стороны, чтобы избежать быстрого тушения флуоресценции [5]. Зонд лаурдан добавляли к выделенным рафтам (40 мкг белка/мл) до конечной концентрации 5 мкМ и инкубировали в течение 30 мин при температуре 23 °С. Спектры флуоресценции регистрировали в кювете длиной 1 см на спектрофлуориметре RF-5301 PC (Shimadzu, Япония) при температуре 23 °С.

Для проведения статистической обработки данных использовали программные пакеты Microsoft Excel и SigmaPlot 12.5. Эксперименты проводили в 3–5 независимых повторностях. Полученные данные представляли в виде средней арифметической M , а разброс значений – в виде стандартного отклонения $\pm SD$. С помощью критерия Шапиро – Уилка проверяли нормальность распределения¹ [15]. При нормальном распределении для доказательства наличия значимых различий между средними применяли t-тест. Различия между экспериментальными данными считали статистически значимыми при $P < 0,05$ и $P < 0,001$.

¹ГОСТ Р ИСО 5479-2002. Статистические методы. Проверка отклонения распределения вероятностей от нормального распределения. М.: Госстандарт России, 2002. 31 с

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Различные стрессовые факторы, в том числе и засуха, способны приводить к образованию в клетках растений АФК и, как следствие, к изменению важных физиолого-биохимических процессов в растительном организме. Показано, что большие количества АФК оказывают повреждающее действие, вызывая окисление липидов, белков и ферментов, необходимых для функционирования хлоропластов и клетки в целом, в то время как в небольших количествах АФК функционируют как сигнальные молекулы [16]. В то же время степень повреждения растительной клетки в результате действия абиотических стрессовых факторов зависит от вида и сорта растения, продолжительности воздействия и переносимости стресса [17]. В связи с этим для исследования нами были выбраны сорта яровой пшеницы с разной степенью устойчивости к дефициту влаги. Для оценки стрессового воздействия проанализировано накопление АФК в изолированных хлоропластах исследуемых сортов. Полученные результаты (таблица) показывают индукцию окислительного стресса в хлоропластах листьев сорта Диамант 2 начиная с 4-го дня почвенной засухи, максимум отмечался на 7-й день и снижался к 10-му дню стрессового воздействия по сравнению с контролем.

Отмечено, что в контроле по всем дням содержание АФК снижалось на 4-й и 7-й день роста растений, а к 10-му дню становилось на уровне с 1-м днем. В варианте с засухой содержание АФК по сравнению с 1-м днем поднималось и держалось примерно на одном уровне. Ранее в работе [18] было показано, что окислительный стресс развивается интенсивнее в листьях ячменя сорта, который менее устойчив к дефициту влаги, так как содержание АФК увеличивалось на 100% по сравнению с контролем. В этой же работе показано, что в листьях засухоустойчивого сорта ячменя содержание АФК увеличивалось на 50%. Количество АФК в хлоропластах листьев Бурятской остистой в условиях почвенной засухи по сравнению с контролем увеличивалось только на 7-й день и на 10-й день снова снижалось.

Известно, что первичной мишенью стрессовых воздействий являются клеточные мембраны. В связи с этим большинство косвенных методов оценки устойчивости растений к стрессовым факторам основано на определении состояния мембранных систем клеточных органелл [19]. Важным показателем физико-химического состояния биологических мембран является микровязкость мембран, которая определяется природой мембранных липидов. Степень микровязкости мембран зависит от многих факторов, например содержания стероидов, состава жирных

кислот, состояния и количества белков в мембране, pH, ионной силы и т.д. Все эти факторы влияют на характер упаковки бислоя и подвижность его компонентов. Микровязкость мембранных липидов является своеобразным «датчиком», который запускает ретроградные сигналы, контролируемые, к примеру, экспрессию десатураз, тем самым адаптируя мембрану к изменениям окружающей среды и оптимизируя преобразование энергии в фотосинтезирующих организмах [20]. Степень упорядоченности липидного матрикса микродоменов хлоропластов пшеницы анализировали с помощью флуоресцентного липофильного зонда – лаурдана (рис. 1, 2).

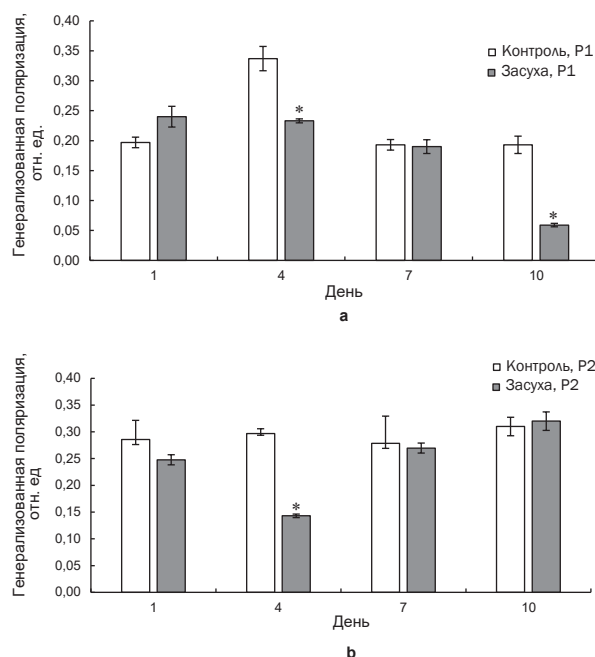


Рис. 1. Генерализованная поляризация рафтов зоны 1 (P1) (a) и рафтов зоны 2 (P2) (b) хлоропластов пшеницы сорта Бурятская остистая в контроле и в условиях засухи (* – наличие статистически значимых различий между вариантами контроля и засухи по дням ($P \leq 0,001$), значимость различий рассчитана с помощью t-теста)

Fig. 1. Generalized polarization of rafts of zone 1 (P1) (a) and rafts of zone 2 (P2) (b) of chloroplasts of wheat of the Buryatskaya ostistaya variety in the control and under drought conditions (* – presence of statistically significant differences between the control and drought variants by days ($P \leq 0.001$), the significance of differences was calculated using the t-test)

Содержание активных форм кислорода в хлоропластах листьев пшеницы, отн. ед. / 1 мг белка

Content of active oxygen forms in chloroplasts of wheat leaves, relative units / 1 mg protein

День	Сорт пшеницы			
	Бурятская остистая		Диамант 2	
	Контроль	Засуха	Контроль	Засуха
1	38±0,9	24±1,5*	47±1,3	37±1,7*
4	19±0,3	13±1,2*	40±0,6	52±1,5*
7	24±0,3	32±0,6*	36±1,2	55±0,3*
10	59±1,2	43±0,3*	46±1,0	55±0,6*

Примечание. * – наличие статистически значимых различий между вариантами контроля и засухи по дням ($P \leq 0,001$), значимость различий рассчитана с помощью t-теста.

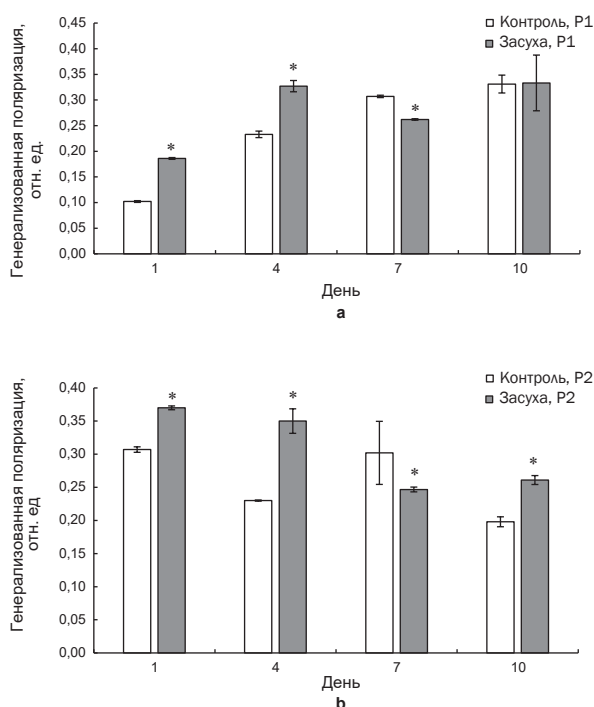


Рис. 2. Генерализованная поляризация рафтов зоны 1 (P1) (a) и рафтов зоны 2 (P2) (b) хлоропластов пшеницы сорта Диамант 2 в контроле и в условиях засухи (* – наличие статистически значимых различий между вариантами контроля и засухи по дням ($P \leq 0,05$), значимость различий рассчитана с помощью t-теста)

Fig. 2. Generalized polarization of rafts of zone 1 (P1) (a) and rafts of zone 2 (P2) (b) of chloroplasts of wheat variety Diamant 2 in control and under drought conditions (* – presence of statistically significant differences between control and drought variants by days ($P \leq 0.05$), the significance of differences was calculated using the t-test)

Рассматривая изменения значений ГП в рафтовых структурах изучаемых сортов (см. рис. 1, 2), можно отметить, что микровязкость липидов увеличивалась в 1-й день засухи в рафтах P1 у сорта Бурятская остистая (от 0,20 до 0,24), а также в рафтах P1 (от 0,10 до 0,19) и рафтах P2 (от 0,31 до 0,37) у сорта Диамант 2. На 4-й день величина ГП увеличивалась только у сорта Диамант 2 в P1 (от 0,23 до 0,33) и в P2 (от 0,23 до 0,35). На 10-й день засухи степень упорядоченности липидов возрастала только в P2 у сорта Диамант 2 (см. рис. 1, 2). Ранее показано, что обезвоживание приводило к повышению микровязкости липидного матрикса мембран хлоропластов, выделенных из 4- и 7-дневных листьев ячменя, что вместе с данными о повышении содержания пигментов и белков свидетельствует в пользу снижения подвижности липидов фотосинтетических мембран молодых проростков. В старых листьях ячменя наблюдался обратный эффект. Умеренное обезвоживание 11-дневных проростков приводило к снижению содержания белка и увеличению «текучести» липидного бислоя, что может быть связано со снижением уровня гранальности фотосинтетических мембран. Таким образом, фотосинтетические мембраны стареющих листьев ячменя являются наиболее чувствительными к обезвоживанию [21]. Следует

отметить, что изменение микровязкости микродоменов по мере роста как в контроле, так и в условиях засухи (по сравнению с 1-м днем) сортоспецифично (см. рис. 1, 2). У засухоустойчивого сорта (Бурятская остистая) микровязкость липидов в P1 существенно снижалась к 10-му дню роста (от 0,19 до 0,06), тогда как в P2 не данный показатель изменялся. Обратная тенденция наблюдалась у сорта, неустойчивого к дефициту влаги (Диамант 2). Микродомены в P1 становились плотнее начиная с 3-го дня, особенно в контроле, в то время как в P2, наоборот, происходило понижение значений ГП (см. рис. 2).

Известно, что пигменты виолаксантин и зеаксантин могут быть включены в регуляцию молекулярной динамики мембран хлоропластов и оказывают большее влияние на их термодинамические параметры по сравнению с другими каротиноидами. Существуют экспериментальные доказательства определенной ориентации зеаксантина в липидных бислоях, где длинная ось зеаксантина расположена перпендикулярно к поверхности мембран. Результатом такой ориентации является заметное уменьшение текучести липидов, кристаллизация мембран и уменьшение мембранной проницаемости для малых молекул [22]. Кроме этого показано, что превращение виолаксантина в зеаксантин делает тилакоидную мембрану более упорядоченной, так как значения генерализованной поляризации постепенно увеличивались [23].

Липидный состав микродоменов зависит от мембраны, из которой они были получены. В настоящее время известно, что липиды мембран хлоропластов представлены в основном моногалактозилдиацилглицеролом (МГДГ) и дигалактозилдиацилглицеролом (ДГДГ [24]. В микродоменах хлоропластов галофитов в нормальных условиях также преобладает МГДГ. Известно, что при воздействии солевого стресса содержание МГДГ в рафтах хлоропластов существенно снижалось [25]. Показано, что чем выше содержание МГДГ в липосомах ДГДГ-МГДГ (70:30), тем ниже значение ГП (0,4) [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ степени упорядоченности липидного матрикса исследуемых микродоменов показал, что эти структуры участвуют в ответных реакциях на создаваемые условия стресса. Особенно это наблюдается в изменениях ГП P1 исследуемых сортов. Кроме того, показаны изменения ГП и в контрольных вариантах, что также указывает на вовлечение микродоменов в физиологические процессы, проходящие с участием мембран хлоропластов. Из полученных результатов видно, что хлоропласты неустойчивого к стрессу сорта генерируют высокий уровень АФК, что, возможно, отражается на степени упорядоченности липидов исследуемых микродоменов. Таким образом, оценка уровня АФК показала, что в хлоропластах засухоустойчивого сорта (Бурятская остистая) содержание АФК было ниже контроля, а в сорте, неустойчивом к дефициту влаги (Диамант 2), наоборот, превышало контрольные значения. Эти данные свидетельствуют о наличии окислительного стресса в хлоропластах листьев неустойчивого к дефициту влаги сорта (Диамант 2). Возможно, в связи с этим больше значимых отличий в значениях ГП выявлено в микродоменах этого же сорта.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Плотникова Л.Я., Глушаков Д.А., Юсов В.С. Результаты изучения засухоустойчивости твердой пшеницы и ее компонентов в Западной Сибири // Вестник Омского государственного аграрного университета. 2022. Т. 4. N 48. С. 56–70. DOI: 10.48136/2222-0364_2022_4_56. EDN: KRNNCU.
2. Huseynova I.M., Suleymanov S.Y., Rustamova S.M., Aliyev J.A. Drought-induced changes in photosynthetic membranes of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars // Biochemistry (Moscow). 2009. Vol. 74, no. 8. P. 903–909. DOI: 10.1134/S0006297909080124. EDN: ХМСВВВ.
3. Валитова Ю.Н., Хабибрахманова В.Р., Белкина А.В., Ренкова А.Г., Минибаева Ф.В. Липидный профиль корней пшеницы при действии мембранотропных агентов // Биологические мембраны. 2020. Т. 37. N 6. С. 466–476. DOI: 10.31857/S0233475520060080. EDN: EIFYJM.
4. Zhukov A., Popov V. Eukaryotic cell membranes: structure, composition, research methods and computational modelling // International Journal of Molecular Sciences. 2023. Vol. 24, no. 13. P. 11226. DOI: 10.3390/ijms241311226.
5. Нурминский В.Н., Нестеров В.Н., Розенцвиг О.А., Ракевич А.А., Букин Ю.С., Капустина И.С. [и др.]. Анализ упорядоченности липидов рафтовых структур в мембранах митохондрий галофитов с применением флуоресцентной микроскопии // Биологические мембраны. 2021. Т. 38. N 4. С. 306–314. DOI: 10.31857/S0233475521040083.
6. Regen S.L. The Origin of lipid rafts // Biochemistry. 2020. Vol. 59, no. 49. P. 4617–4621. DOI: 10.1021/acs.biochem.0c00851.
7. Radyukhin V.A., Baratova L.A. Molecular mechanisms of raft organization in biological membranes // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2020. Vol. 46, no. 3. P. 269–279. DOI: 10.1134/S1068162020030164. EDN: ICMPEP.
8. Петров Н.Ю., Онищенко Н.С. Фотосинтетическая деятельность и продуктивность сортов озимой пшеницы в зависимости от применяемых биопрепаратов // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2012. N 10. С. 23–25. EDN: PDFOST.
9. Gajate C., Mollinedo F. Lipid raft isolation by sucrose gradient centrifugation and visualization of raft-located proteins by fluorescence microscopy: the use of combined techniques to assess Fas/CD95 location in rafts during apoptosis triggering // Lipid Rafts. Methods in Molecular Biology / E. Bieberich. New York: Humana, 2021. Vol. 2187. P. 147–186. DOI: 10.1007/978-1-0716-0814-2_9.
10. Капустина И.С., Гурина В.В., Спиридонова Е.В., Озолина Н.В. Характеристика мембранных структур хлоропластов пшеницы // Биологические мембраны. 2023. Т. 40. N 6. С. 472–478. DOI: 10.31857/S0233475523060051. EDN: FMXCTT.
11. Rozentsvet O.A., Bogdanova E.S., Nesterov V.N., Kosobryukhov A.A. Daytime dynamics of the photosynthetic apparatus' structural and functional parameters in wild halophytes // Russian Journal of Plant Physiology. 2019. Vol. 66, no. 6. P. 901–910. DOI: 10.1134/S1021443719060104. EDN: FNDLNG.
12. Korsukova A.V., Grabelnykh O.I., Pobezhimova T.P., Koroleva N.A., Fedoseeva I.V., Pavlovskaya N.S., et al. Cold hardening prevents H₂O₂-induced programmed cell death in maize coleoptiles // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. 2013. Vol. 9, no. 1. P. 246–257. EDN: PNGTDX.
13. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical Biochemistry. 1976. Vol. 72. P. 248–254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
14. Белугин Б.В., Жесткова И.М., Трофимова М.С. Сродство PIP-аквапоринов к стерин-обогащенным доменам плазмалеммы клеток этиолированных проростков гороха // Биологические мембраны. 2010. Т. 27. N 5. С. 394–403. EDN: MVSKSF.
15. Гланц С. Медико-биологическая статистика / пер. с англ. М.: Практика, 1999. 462 с.
16. Yurina N.P., Odintsova M.S. Chloroplast retrograde signaling system // Russian Journal of Plant Physiology. 2019. Vol. 66, no. 4. P. 509–520. DOI: 10.1134/S1021443719040149. EDN: IATOLZ.
17. Osipova S.V., Ostrovskaya R.M., Tret'yakova A.V. Genetic aspects of drought resistance in polyploid plants by the example of wheat *Triticum aestivum* L. // Russian Journal of Plant Physiology. 2022. Vol. 69, no. 3. P. 44. DOI: 10.1134/S1021443722020145. EDN: QJKNKC.
18. Курьянчик Т.Г., Козел Н.В. Фотосинтетический аппарат растений ячменя, обработанных 5-аминолевулиновой кислотой: механизмы адаптации к засухе // Экспериментальная биология и биотехнология. 2022. N 3. С. 26–38. DOI: 10.33581/2957-5060-2022-3-26-38. EDN: EKULWY.
19. Нестеренко Т.В., Тихомиров А.А., Шихов В.Н. Индукция флуоресценции хлорофилла и оценка устойчивости растений к неблагоприятным воздействиям // Журнал общей биологии. 2007. Т. 68. N 6. С. 444–458. EDN: IBGYDH.
20. Vershubskii A.V., Tikhonov A.N. Structural and functional aspects of electron transport thermoregulation and ATP synthesis in chloroplasts // Biochemistry (Moscow). 2021. Vol. 86, no. 1. P. 92–104. DOI: 10.1134/S0006297921010090. EDN: KFCDOC.
21. Кабашникова Л.Ф. Фотосинтетический аппарат и стресс у растений: монография. Минск: Белорусская наука, 2014. 272 с. EDN: UGOKDB.
22. Маслова Т.Г., Марковская Е.Ф., Слемнев Н.Н. Функции каротиноидов в листьях высших растений (обзор) // Журнал общей биологии. 2020. Т. 81. N 4. С. 297–310. DOI: 10.31857/S0044459620040065. EDN: XSLDGB.
23. Szilágyi A., Selstam E., Åkerlund H.-E. Laurdan fluorescence spectroscopy in the thylakoid bilayer: the effect of violaxanthin to zeaxanthin conversion on the galactolipid dominated lipid environment // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes. 2008. Vol. 1778, no. 1. P. 348–355. DOI: 10.1016/j.bbamem.2007.10.006.
24. Zhukov A.V. On qualitative composition of membrane lipids in plant cells // Russian Journal of Plant Physiology. 2021. Vol. 68, no. 2. P. 367–383. DOI: 10.31857/S001533032101022X. EDN: UDXOWC.
25. Rozentsvet O.A., Bogdanova E.S., Nurminsky V.N., Nesterov V.N., Chernyshov M.Yu. Detergent-resistant membranes in chloroplasts and mitochondria of the halophyte *Salicornia perennans* under salt stress // Plants. 2023. Vol. 12, no. 6. P. 1265. DOI: 10.3390/plants12061265.

REFERENCES

1. Plotnikova L.Ya., Glushakov D.A., Yusov V.S. Results of the study of drought resistance of durum wheat and its components in Western Siberia. *Vestnik of Omsk SAU*. 2022;4(48):56-70. (In Russian). DOI: 10.48136/2222-0364_2022_4_56. EDN: KRNNCU.
2. Huseynova I.M., Suleymanov S.Y., Rustamova S.M., Aliyev J.A. Drought-induced changes in photosynthetic membranes of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Biochemistry (Moscow)*. 2009;74(8):903-909. DOI: 10.1134/S0006297909080124. EDN: XMCBUB.
3. Valitova J.N., Khabibrakhmanova V.R., Belkina A.V., Renkova A.G., Minibayeva F.V. The lipid profile of wheat roots treated with membranotropic agents. *Biologicheskie membrany*. 2020;37(6):466-476. (In Russian). DOI: 10.31857/S0233475520060080. EDN: EIFYJM.
4. Zhukov A., Popov V. Eukaryotic cell membranes: structure, composition, research methods and computational modelling. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(13):11226. DOI: 10.3390/ijms241311226.
5. Nurminsky V.N., Nesterov V.N., Rosentsvet O.A., Rakevich A.L., Bukin Yu.S., Kapustina I.S., Ozolina N.V. Analysis of lipid order of raft structures in mitochondrial membranes of halophytes with the aid of fluorescent microscopy. *Biologicheskie membrany*. 2021;38(4):306-314. (In Russian). DOI: 10.31857/S0233475521040083.
6. Regen S.L. The Origin of lipid rafts. *Biochemistry*. 2020;59(49):4617-4621. DOI: 10.1021/acs.biochem.0c00851.
7. Radyukhin V.A., Baratova L.A. Molecular mechanisms of raft organization in biological membranes. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2020;46(3):269-279. DOI: 10.1134/S1068162020030164. EDN: ICMPEN.
8. Petrov N.Yu., Onishchenko N.S. Photosynthetic activity and productivity of winter wheat varieties depending on applied biological products. *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2012;10:23-25. (In Russian). EDN: PDFOST.
9. Gajate C., Mollinedo F. Lipid raft isolation by sucrose gradient centrifugation and visualization of raft-located proteins by fluorescence microscopy: the use of combined techniques to assess Fas/CD95 location in rafts during apoptosis triggering. In: Bieberich E. (ed.). *Lipid Rafts. Methods in Molecular Biology*. New York: Humana; 2021, vol. 2187, p. 147-186. DOI: 10.1007/978-1-0716-0814-2_9.
10. Kapustina I.S., Gurina V.V., Spiridonova E.V., Ozolina N.V. Characteristics of membrane structures of wheat chloroplasts. *Biologicheskie membrany*. 2023;40(6):472-478. (In Russian). DOI: 10.31857/S0233475523060051. EDN: FMXCTT.
11. Rozentsvet O.A., Bogdanova E.S., Nesterov V.N., Kosobryukhov A.A. Daytime dynamics of the photosynthetic apparatus' structural and functional parameters in wild halophytes. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2019;66(6):901-910. DOI: 10.1134/S1021443719060104. EDN: FNDLNG.
12. Korsukova A.V., Grabelnykh O.I., Pobezhimova T.P., Koroleva N.A., Fedoseeva I.V., Pavlovskaya N.S., et al. Cold hardening prevents H₂O₂-induced programmed cell death in maize coleoptiles. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 2013;9(1):246-257. EDN: PNGTDX.
13. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 1976;72:248-254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
14. Belugin B.V., Zhestkova I.M., Trofimova M.S. Affinity of PIP-aquaporins to sterol-enriched domains in plasma membrane of the cells of etiolated pea seedlings. *Biologicheskie membrany*. 2010;27(5):394-403. (In Russian). EDN: MVSKSF.
15. Glantz S.A. Primer of biostatistics; 1992, 472 p. (Russ. ed.: *Mediko-biologicheskaya statistika*. Moscow: Praktika; 1999, 462 p.).
16. Yurina N.P., Odintsova M.S. Chloroplast retrograde signaling system. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2019;66(4):509-520. DOI: 10.1134/S1021443719040149. EDN: IATOLZ.
17. Osipova S.V., Ostrovskaya R.M., Tret'yakova A.V. Genetic aspects of drought resistance in polyploid plants by the example of wheat *Triticum aestivum* L. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2022;69(3):44. DOI: 10.1134/S1021443722020145. EDN: QJKNKC.
18. Kuryanichyuk T.G., Kozel N.V. Photosynthetic apparatus of barley plants treated with 5-aminolevulinic acid: mechanisms of adaptation to drought. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2022;3:26-38. (In Russian). DOI: 10.33581/2957-5060-2022-3-26-38. EDN: EKULWY.
19. Nesterenko T.V., Tikhomirov A.A., Shikhov V.N. Induction of chlorophyll fluorescence and assessment of plant resistance to adverse effects. *Zhurnal obshchei biologii*. 2007;68(6):444-458. (In Russian). EDN: IBGYDH.
20. Vershubskii A.V., Tikhonov A.N. Structural and functional aspects of electron transport thermoregulation and ATP synthesis in chloroplasts. *Biochemistry (Moscow)*. 2021;86(1):92-104. DOI: 10.1134/S0006297921010090. EDN: KFCDQC.
21. Kabashnikova L.F. *Photosynthetic apparatus and stress in plants*. Minsk: Belorusskaya nauka; 2014, 272 p. (In Russian). EDN: UGOKDB.
22. Maslova T.G., Markovskaya E.F., Slemnev N.N. Functions of carotenoids in leaves of higher plants (an overview). *Zhurnal obshchei biologii*. 2020;81(4):297-310. (In Russian). DOI: 10.31857/S0044459620040065. EDN: XSLDGB.
23. Szilágyi A., Selstam E., Åkerlund H.-E. Laurdan fluorescence spectroscopy in the thylakoid bilayer: the effect of violaxanthin to zeaxanthin conversion on the galactolipid dominated lipid environment. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2008;1778(1):348-355. DOI: 10.1016/j.bbame.2007.10.006.
24. Zhukov A.V. On qualitative composition of membrane lipids in plant cells. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2021;68(2):367-383. DOI: 10.31857/S001533032101022X. EDN: UDXOWC.
25. Rozentsvet O.A., Bogdanova E.S., Nurminsky V.N., Nesterov V.N., Chernyshov M.Yu. Detergent-resistant membranes in chloroplasts and mitochondria of the halophyte *Salicornia perennans* under salt stress. *Plants*. 2023;12(6):1265. DOI: 10.3390/plants12061265.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Капустина Ирина Сергеевна,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
nirinka24@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5159-9816>

Гурина Вероника Валериевна,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
nichka.g@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7552-0818>

Спиридонова Екатерина Владимировна,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
✉ yatakol@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7440-5658>

Озолина Наталья Владимировна,
д.б.н., заведующий лабораторией,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
ozol@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0436-8166>

Липчанская Татьяна Валерьевна,
ведущий инженер,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
t20010305@gmail.ru
<https://orcid.org/0009-0000-7956-966X>

Третьякова Анастасия Валерьевна,
к.б.н., доцент, доцент,
Иркутский государственный университет,
664003 г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,
Российская Федерация,
Anastasiya_chepi@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1995-09>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Irina S. Kapustina,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
nirinka24@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5159-9816>

Veronica V. Gurina,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
nichka.g@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7552-0818>

Ekaterina V. Spiridonova,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
✉ yatakol@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7440-5658>

Natalia V. Ozolina,
Dr. Sci. (Biology), Head of the Laboratory,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
ozol@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0436-8166>

Tatyana V. Lipchanskaya,
Lead Engineer,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
t20010305@gmail.ru
<https://orcid.org/0009-0000-7956-966X>

Anastasiya V. Tret'yakova,
Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Associate Professor,
Irkutsk State University,
1, Karl Marks St., Irkutsk, 664003,
Russian Federation,
Anastasiya_chepi@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1995-09>

Вклад авторов

И.С. Капустина – разработка концепции.
В.В. Гурина – проведение исследования.
Е.В. Спиридонова – написание
черновика рукописи.
Н.В. Озолина – научное руководство.
Т.В. Липчанская – проведение исследования.
А.В. Третьякова – редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 12.03.2025.
Одобрена после рецензирования 26.06.2025.
Принята к публикации 13.02.2026.

Contribution of the authors

Irina S. Kapustina – conceptualization.
Veronica V. Gurina – investigation.
Ekaterina V. Spiridonova – writing – original draft.
Natalia V. Ozolina – supervision.
Tatyana V. Lipchanskaya – investigation.
Anastasiya V. Tret'yakova – 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 12.03.2025.
Approved after reviewing 26.06.2025.
Accepted for publication 13.02.2026.



Гибридные материалы на основе полиметилметакрилата и природных биополимеров как основа для повышения качества костных цементов

Д.С. Копицын*✉, В.Н. Оболенский**,***, О.А. Доронина**,
Д.В. Римашевский****, С.А. Оснач*****, Ф.С. Тоузаков*,
М.С. Кичесов*, В.А. Винокуров*

*Российский государственный университет нефти и газа (национальный исследовательский университет) имени И.М. Губкина, Москва, Российская Федерация

**Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

***Городская клиническая больница имени В.П. Демикова Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Российская Федерация

****Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Российская Федерация

*****Городская клиническая больница имени С.С. Юдина Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Российская Федерация

Аннотация. Одним из наиболее распространенных и востребованных материалов для костной хирургии на сегодняшний день остается костный цемент на основе полиметилметакрилата. Основные направления научных изысканий сосредоточены на создании цементов нового поколения, обладающих комплексом улучшенных свойств, таких как снижение экзотермического эффекта при отверждении, повышение биосовместимости, возможность регулирования механических параметров медицинского изделия, продление срока службы имплантатов. Одним из наиболее перспективных вариантов достижения улучшенных функциональных свойств костных цементов является разработка нанокомпозитных систем с применением биополимерных модификаторов. Целью проведенной работы являлось исследование способа создания композитного материала на основе полиметилметакрилата и биополимеров, позволяющего получать составы для акрилатных костных цементов с равномерным распределением наноцеллюлозы в объеме материала. Предложенный способ получения композитного материала основан на предварительной полимеризации метилметакрилата на волокнах целлюлозы с последующим использованием получаемого материала в качестве одного из компонентов костного цемента. Для полученных таким способом образцов исследован температурный профиль полимеризации, изучены механические свойства, проанализированы структура и морфология методом электронной микроскопии. Модификация костных цементов материалами на основе целлюлозы позволила увеличить длительность и повысить эффективность высвобождения антибиотика из состава модифицированного костного цемента. При этом разработанные материалы модифицированных костных цементов обладают сопоставимыми механическими свойствами по сравнению с классическими коммерческими составами.

Ключевые слова: костные цементы, полиметилметакрилат, нанокристаллическая целлюлоза, карбоксилированная целлюлоза, микрокристаллическая целлюлоза

Для цитирования: Копицын Д.С., Оболенский В.Н., Доронина О.А., Римашевский Д.В., Оснач С.А., Тоузаков Ф.С. [и др.]. Гибридные материалы на основе полиметилметакрилата и природных биополимеров как основа для повышения качества костных цементов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 61–71. DOI: 10.21285/achb.1016. EDN: TSJHGO.

Hybrid materials based on polymethyl methacrylate and natural biopolymers for improving the performance of bone cements

Dmitry S. Kopitsyn*✉, Vladimir N. Obolensky**,***, Oksana A. Doronina**, Denis V. Rimashevsky****, Stanislav A. Osnach*****, Filipp S. Touzakov*, Mihail S. Kichesov*, Vladimir A. Vinokurov*

*National University of Oil and Gas "Gubkin University", Moscow, Russian Federation

**N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

***V.P. Demikhov City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

****RUDN University, Moscow, Russian Federation

*****S.S. Yudin City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

Abstract. Polymethyl methacrylate-based bone cements remain among the most widely used and demanded materials in bone surgery. Current research efforts are focused on the development of next-generation cements with a combination of improved properties, including reduced exothermic heat release during curing, enhanced biocompatibility, the possibility of tailoring the mechanical parameters of medical devices, and their extended service life. One of the most promising approaches to achieving improved functional performance of bone cements consists in the development of nanocomposite systems based on biopolymer modifiers. The aim of the present study was to investigate an approach to creating a composite material based on polymethyl methacrylate and biopolymers that enables the production of acrylic bone cement formulations with a uniform distribution of nanocellulose throughout the material bulk. The proposed synthesis approach is based on the preliminary polymerization of methyl methacrylate on cellulose fibers, followed by the use of the resulting material as a bone cement component. The as-obtained samples were subjected to electron microscopy analysis to examine their polymerization temperature profile, mechanical properties, as well as structural and morphological characteristics. Modification of bone cements with cellulose-based materials made it possible to extend the duration and enhance the process of antibiotic release from the modified bone cement matrix. In addition, the developed modified bone cement materials exhibit mechanical properties comparable to those of conventional commercial formulations.

Keywords: bone cements, polymethyl methacrylate, nanocrystalline cellulose, carboxylated cellulose, microcrystalline cellulose

For citation: Kopitsyn D.S., Obolensky V.N., Doronina O.A., Rimashevsky D.V., Osnach S.A., Touzakov F.S., et al. Hybrid materials based on polymethyl methacrylate and natural biopolymers for improving the performance of bone cements. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):61-71. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1016. EDN: TSJHGO.

ВВЕДЕНИЕ

Костные цементы на основе полиметилметакрилата (ПММА) на сегодняшний день остаются «золотым стандартом» в ортопедической хирургии во всем мире для фиксации эндопротезов суставов и вертебропластики [1–4]. Их широкое применение обусловлено высокой механической прочностью, быстрым отверждением и простотой использования *in situ*. Однако, несмотря на неоспоримые преимущества, традиционные костные цементы на основе ПММА обладают рядом критических недостатков, ограничивающих долгосрочную эффективность. Среди них можно выделить выделение тепла в процессе экзотермической полимеризации, приводящее к некрозу прилегающих тканей, потенциальную цитотоксичность, связанную с остаточным мономером – метилметакрилатом (ММА), а также отсутствие остеointеграции и остеокондукции [5–8].

К числу ограничений традиционных ПММА-цементов можно отнести также низкую эффективность антибиотикотерапии при наличии в составе костного цемента антибиотика [9–12]. Высокая гидрофобность матрицы приводит к удержанию 85–90% противомикробного препарата в объеме цемента, ограничивая биодоступность антибиотиков. Для эффективного высвобождения антибиотиков из объема костного цемента необходима пористость материалов, тогда как ПММА является довольно плотным полимером, что приводит к медленному и ограниченному высвобождению антибиотиков.

Существуют различные подходы к увеличению пористости ПММА [13], в том числе изменение условий синтеза [14] или добавление специальных порообразователей, представляющих собой водорастворимые компоненты, такие как полиэтиленгликоль [15, 16], поливинилпирролидон [17], вымываемые со временем из

объема цемента, в результате чего материал приобретает определенную пористость. Однако увеличение пористости цемента приводит к ухудшению механических свойств. Другой подход для оптимизации свойств костных цементов предполагает модификацию ПММА без ухудшения механических свойств путем внедрения в гидрофобную полимерную матрицу гидрофильных модификаторов.

В свете растущих требований к биосовместимости и функциональности имплантируемых материалов задача модификации ПММА-цементов для придания им биоактивных свойств и улучшения их взаимодействия с костной тканью представляется чрезвычайно актуальной [18–20]. Разработаны различные подходы к модификации акриловых костных цементов с использованием таких материалов, как гидроксиапатит [21], биоактивные стеклокерамические частицы [22], мезо-пористый кремнезем [15], галлуазит [23].

Одним из наиболее перспективных направлений является разработка гибридных (композитных) материалов на основе ПММА и гидрофильных биополимеров. В данном контексте природные биополимеры, такие как хитозан, коллаген, фиброин шелка, альгинат, гиалуроновая кислота, представляют особый интерес. Эти соединения являются биосовместимыми, биоразлагаемыми, проявляют врожденную биологическую активность, способствуя адгезии и пролиферации клеток, обладают антимикробными свойствами (хитозан) и могут служить матрицей для регенерации костной ткани. Интеграция таких биополимеров в матрицу ПММА может позволить целенаправленно модифицировать свойства костного цемента: снизить температуру полимеризации, улучшить его гидрофильность, придать osteoconductive свойства и обеспечить контролируемую доставку остеогенных факторов или антибиотиков.

Известны работы по модификации акриловых костных цементов при помощи таких биополимеров, как желатин [16, 24, 25], сополимер молочной и гликолевой кислоты ПЛАГ [26], хитозан [10, 16, 27, 28], целлюлоза [16, 29–31]. Применение гидрофильных нерастворимых биополимеров (целлюлозы или хитозана) в матрице ПММА более перспективно, чем растворимых порообразователей (таких как полиэтиленгликоль или желатин), так как они действуют как многофункциональные добавки, обеспечивая транспорт воды в объем материала и одновременно укрепляя костный цемент [10, 27–29]. Такие композиты на основе ПММА и нерастворимых биополимеров обладают прочностными характеристиками синтетического полимера в сочетании с функциональными возможностями природных компонентов.

Композитные материалы на основе целлюлозы представляют особый интерес. Этот биополимер имеет множество различных форм, отличающихся морфологией, структурными и химическими свойствами, что может быть использовано для получения композитов ПММА с заданными свойствами. В данной работе рассмотрено влияние различных форм целлюлозы на механические свойства композитных материалов на основе ПММА. Разработана методика синтеза компонентов костных цементов, представляющих собой композиты ПММА и целлюлозы – нанокристаллической целлюлозы (НКЦ), микрокристаллической целлюлозы (МКЦ), карбоксилированной наноцеллюлозы (КНЦ), синтезированы

образцы костных цементов нового состава, и изучены их прочностные свойства.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты. Для реакции полимеризации использовали мономер ММА (чистота более 99%, Carl Roth, Германия), очищенный от ингибиторов путем перегонки и пропуска через колонку с Al_2O_3 , микрокристаллическую целлюлозу Avicel PH-101 (размер частиц – 50 мкм, Sigma Aldrich, США), НКЦ CelluForce (Канада), 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил (ТЕМПО) (Macklin, Китай, степень чистоты 98%), бромид натрия (Acros Organics, Бельгия, степень чистоты – более 99%), гипохлорит натрия марки А (Aqualeon, Россия, содержание активного хлора не менее 140 г/л), гидроксид натрия («Агат-Мед», Россия, ч.д.а.), гидрохинон (99%, SRL, Индия), *N,N*-диметил-пара-толуидин (99%, LEAP Chem, Китай), персульфат аммония (99%, SRL, Индия).

Получение карбоксилированной наноцеллюлозы. В качестве исходного сырья использована целлюлоза Архангельского целлюлозно-бумажного комбината (г. Архангельск, Россия). В 1000 мл дистиллированной воды растворяли 1 г бромида натрия (9,7 ммоль) и 0,16 г катализатора ТЕМПО (1 ммоль). Предварительно измельчали в кофемолке BORK J500 (BORK, Россия) 10 г целлюлозосодержащего сырья, затем добавляли в полученный ранее раствор бромида натрия и катализатора. При постоянном перемешивании в смесь вводили 120 мл раствора гипохлорита натрия (227,7 ммоль), после чего с помощью 0,5 М раствора гидроксида натрия устанавливали и поддерживали уровень pH, равный 10. Синтез останавливали в момент прекращения снижения уровня pH, после чего фиксировали время окончания реакции и общий объем добавленного щелочного раствора. Полученную целлюлозную массу отделяли на вакуумном фильтре, помещали в стеклянную чашку Петри и оставляли в сушильном шкафу (Binder, Германия) при 50 °C на 15 ч. Высушенную целлюлозу измельчали в кофемолке и хранили в чашках Петри до дальнейшего использования.

Синтез композитов полиметилметакрилатов с биополимерами. Получение композитов биополимеров с ПММА осуществлялось путем эмульсионной полимеризации ММА на поверхности целлюлозы, суспензированной в воде. Использованы образцы различных форм целлюлозы: КНЦ, МКЦ, НКЦ.

Порошок биополимера предварительно смачивался рассчитанным количеством ММА. Для осуществления реакции в колбу с обратным холодильником загружали сухой порошок биополимера и к нему при постоянном перемешивании добавляли ММА. Нагревали реакционную массу до 70 °C и при интенсивном перемешивании добавляли рассчитанное количество воды, содержащей 2% масс. додецилсульфата натрия в качестве эмульгатора. В полученную эмульсию вводился инициатор полимеризации персульфат аммония (APS, $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$) в количестве 0,5% от массы мономера, после чего состав загружался в трехгорлую колбу, снабженную механической мешалкой, капельной воронкой, обратным холодильником и трубкой для барботирования реакционной массы инертным газом (азотом). Через 30 мин по каплям в течение получаса добавляли остаток мономера. Реакционную массу непрерывно переме-

шивали и продували азотом в течение еще 20–30 мин для удаления кислорода. После окончания продувки реакцию проводили при 70 °С в течение еще 3 ч при постоянном перемешивании со скоростью 400 об/мин. Концентрация персульфата аммония в расчете на общий объем эмульсии составляла 3 г/100 мл, массовое отношение биополимер/ММА – 30:70. Данное соотношение было выбрано исходя из баланса свойств получаемого материала. Композит с содержанием целлюлозы выше 30% масс. при дальнейшем его смешении с мономером для получения костного цемента не способен обеспечить нужной пластичности и однородности массы, в результате чего не удается получить костный цемент при рекомендуемых в хирургии соотношениях твердого (мелкодисперсный ПММА) и жидкого (ММА) компонентов. В случае меньшего содержания целлюлозы, как показали предварительные эксперименты, водоудерживающая способность композита недостаточно велика для обеспечения достаточной емкости костного цемента по антибиотикам.

Синтез образцов костного цемента. Для синтеза образцов костного цемента на основе композитных материалов ПММА с гидрофильными биополимерами в качестве мономерной жидкой компоненты готовили аналогичный по составу коммерческому препарату раствор мономера с соответствующими компонентами. Жидкая часть коммерческого препарата состоит из жидкого мономера ММА с растворенными в нем стабилизатором гидрохиноном и ускорителем реакции полимеризации *N,N*-диметил-*p*-толуидином.

В качестве порошковой части для приготовления образцов костного цемента использовали гибридные материалы на основе композитов биополимеров с ПММА, полученные методом эмульсионной полимеризации.

Для приготовления образцов костного цемента смешивали композит ПММА – биополимер и раствор мономера ММА в соотношении 2:1 по массе. Далее состав тщательно перемешивали в течение 5 мин и помещали в форму из фторопласта для получения образцов в виде пластин для испытаний на излом и в форме лопаток для испытаний на разрыв (табл. 1),

затем оставляли сохнуть составы при комнатной температуре в течение 12 ч. После завершения процесса полимеризации каждый образец извлекали из формы и проводили эксперименты по изучению прочности на излом. Образцы каждого состава были синтезированы в трех повторностях для оценки статистической достоверности проводимых экспериментальных исследований (рис. 1).

Исследования свойств образцов. Исследования механических свойств получаемых составов костных цемента проводили в соответствии со схемой эксперимента, представленной в ГОСТ ISO 5833-2011¹ и ГОСТ Р ИСО 16402-2017². Эксперименты представляли собой испытания на излом пластин костного цемента после их выдерживания в физрастворе. Испытания проводились с использованием разрывной машины Tochtline TPM-O 2,5 C1 (ООО «Завод испытательных приборов», Россия) при скорости испытания (скорости перемещения подвижной траверсы) 5 мм/мин.

Анализ молекулярно-массового распределения композитных материалов на основе ПММА и гидрофильных природных биополимеров выполняли методом гель-проникающей хроматографии с использованием хроматографа Agilent 1260MDS (Agilent Technologies Inc., США), оснащенного двумя последовательно соединенными колонками Polargel-M 300×7,5 мм (Agilent Technologies Inc., США), вискозиметрическим детектором и дифференциальным рефрактометрическим детектором (объем вводимой пробы – 100 мкл, температура колонки – 25 °С, растворитель – тетрагидрофуран, скорость потока – 1 мл/мин). Перед измерением готовили раствор образца в тетрагидрофуране. Расчет средних молекулярных масс осуществляли с использованием универсальной калибровки по стандартным образцам ПММА с низкой полидисперсностью (Agilent Technologies Inc., США), диапазон молекулярных масс стандартных образцов – от 103 до 106 г/моль.

Анализ микроструктуры образцов композитных материалов на основе ПММА и гидрофильных природных биополимеров осуществляли методом сканирующей электронной микроскопии с использованием

Таблица 1. Размеры образцов костного цемента для исследования механических свойств

Table 1. Bone cement sample sizes for mechanical properties studies

Композит	Пластины			Лопатки		
	Ширина, мм	Толщина, мм	Площадь сечения, мм ²	Ширина, мм	Толщина, мм	Площадь сечения, мм ²
Полиметилметакрилат – карбоксилированная наноцеллюлоза	8,7	3,8	33,06	4,2	3,2	13,44
	9,0	4,4	39,60	3,9	3,2	12,48
	9,1	4,6	41,86	5,6	2,6	14,56
Полиметилметакрилат – микрокристаллическая целлюлоза	9,5	4,7	44,65	4,4	3,9	17,16
	9,7	5,6	54,32	4,1	3,5	14,35
	9,8	5,6	54,88	3,9	3,0	11,70
Полиметилметакрилат – нанокристаллическая целлюлоза	9,2	4,3	39,56	3,8	2,5	9,50
	9,0	4,7	42,30	3,9	2,5	9,75
	9,2	4,5	41,40	3,8	2,5	9,50

¹ГОСТ ISO 5833-2011. Имплантаты для хирургии. Акрилцементы. М.: Стандартиформ, 2013. 20 с.

²ГОСТ Р ИСО 16402-2017. Имплантаты для хирургии. Цемент на основе акриловой смолы. Испытание усталости при изгибе цемента на основе акриловой смолы, применяемых в ортопедии. М.: Стандартиформ, 2017. 12 с.

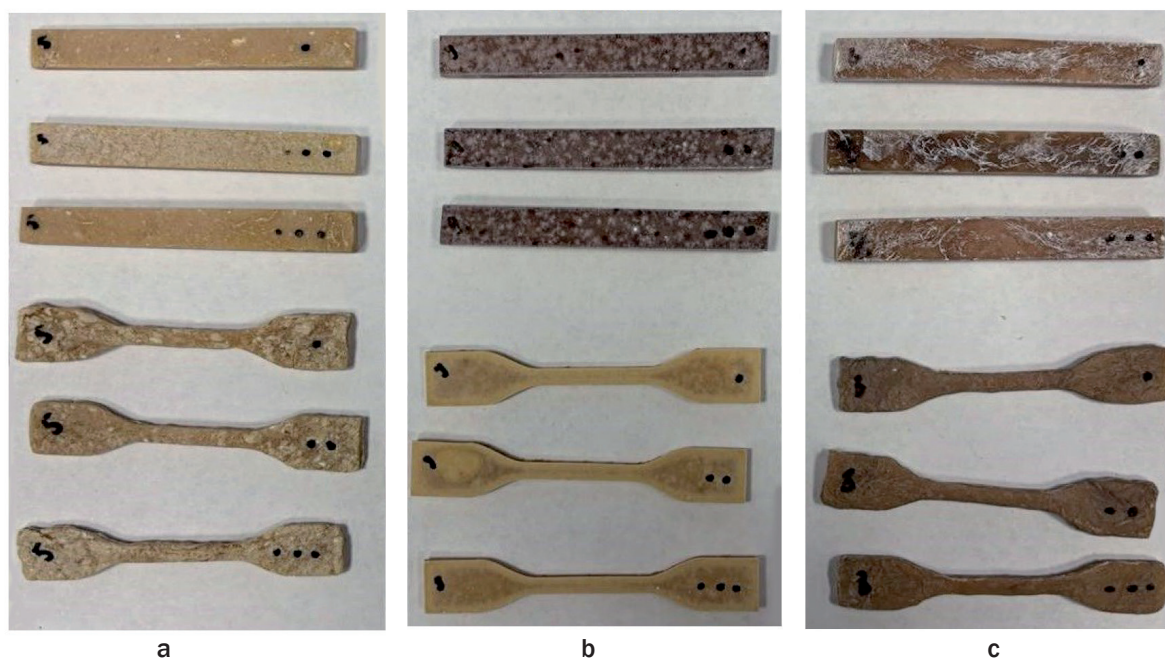


Рис. 1. Изображение образцов костного цемента для исследования механических свойств: а – полиметилметакрилат – карбоксилированная нанокеллюлоза; б – полиметилметакрилат – нанокристаллическая целлюлоза; с – полиметилметакрилат – микрокристаллическая целлюлоза

Fig. 1. Image of bone cement samples for mechanical properties study: a – polymethylmethacrylate – carboxylated nanocellulose; b – polymethylmethacrylate – nanocrystalline cellulose; c – polymethylmethacrylate – microcrystalline cellulose

двухлучевой системы JEOL JIB 4501 (Akishima, Япония). Все образцы для предотвращения зарядки поверхности были покрыты тонким (10 нм) слоем золота при помощи аппарата магнетронного напыления Quorum Technologies Q150R Plus (Quorum Technologies, Канада). Регистрация снимков электронной микроскопии проводилась в режиме вторичных электронов при ускоряющем напряжении 10 кВ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Традиционные акриловые костные цементы состоят преимущественно из гидрофобного полимера, что снижает эффективность взаимодействия цемента с биологическими средами. Перспективным представляется новое поколение цементов на основе ПММА и гидрофильных биополимеров. Такой композитный материал может иметь повышенную жесткость и прочность за счет своей волокнистой структуры, обеспечивая при этом улучшение биосовместимости и гидрофильности цемента. Структура материала, предполагающая формирование проводящей воду гидрофильной сети в гидрофобной матрице, способствует увеличению сорбционной емкости антибиотиков, улучшению транспортных свойств, снижению температуры полимеризации, повышению остеокондуктивности.

В качестве модификаторов в настоящей работе выбраны биополимеры природного происхождения, представляющие собой различные формы и производные целлюлозы – МКЦ, НКЦ и КНЦ. МКЦ имеет частицы размером 10–200 мкм, получаемые кислотным гидролизом древесной массы, обладает высокой механической прочностью (70–110 МПа), инертностью и

гидрофильностью. Этот полимер часто используется в качестве армирующего наполнителя.

КНЦ является продуктом окисления целлюлозы гипохлоритом натрия в присутствии катализатора ТЕМРО с образованием наноразмерных частиц (ширина – 10–50 нм, длина – 200–500 нм) с карбоксильными группами (–COOH). Обладает высокой удельной поверхностью, отрицательным дзета-потенциалом (до -50 мВ) и повышенной гидрофильностью. Содержание карбоксильных групп достигает 1,4–1,7 ммоль/г, что может способствовать сорбции положительно заряженных антибиотиков (таких как ванкомицин).

НКЦ является продуктом глубокого сернокислотного (60% серная кислота) гидролиза целлюлозы при температурах до 65 °С с последующим механическим измельчением ультразвуковой обработкой. Имеет характерные размеры наночастиц: диаметр – от 5 до 15 нм, длина – 100–300 нм. Обладает высокой удельной прочностью, относительно высокой плотностью (~1,6 г/см³), биосовместимостью и биоразлагаемостью. Высокая гидрофильность обеспечивается большой концентрацией гидроксильных и сульфогрупп. Степень кристалличности может достигать 80–90%.

Создание композитного материала на базе гидрофобного ПММА с гидрофильным модификатором представляет собой нетривиальную задачу, так как конечный продукт должен иметь равномерное распределение компонентного состава и единую структуру в объеме материала. Высокая полярность и гидрофильность природных биополимеров приводит к плохой совместимости с гидрофобной полимерной матрицей, что вызывает фазовое расслоение, образование структурных дефектов

и заметное снижение механической прочности готового материала при достаточно большом содержании модификатора (более 5–10% в зависимости от компонента).

В нашем недавнем исследовании [29] включение микрофибриллярной целлюлозы (МФЦ) в состав костного цемента на основе ПММА привело к значительному повышению эффективности высвобождения антибиотика и улучшению микротвердости цемента. Однако добавление МФЦ путем простого механического смешения на уровне более 5% масс. в акриловый костный цемент приводило к неоднородному распределению наполнителя в полимерной матрице и увеличению времени полимеризации. Распределение гидрофильных целлюлозных волокон в объеме образца было затруднено из-за гидрофобной природы полимерной матрицы [13]. В связи с этим требуются усовершенствованные подходы для достижения однородной дисперсии МФЦ в матрице ПММА.

В данной работе частицы/волокна целлюлозы были модифицированы путем полимеризации на них полимера в водной суспензии MMA. Получаемый гибридный материал в виде порошка далее использовался для синтеза образцов костного цемента при смешении с MMA. Применение полученного гибридного материала значительно упростило приготовление модифицированного костного цемента благодаря однородному распределению наполнителя в цементной матрице и более равномерному смачиванию порошка MMA.

В процессе синтеза образцов костного цемента проводили регистрацию температуры полимеризации реакционной смеси (рис. 2). Поскольку масса, форма и содержание целлюлозы одинаковы для всех образцов, различия в температурном профиле свидетельствуют о влиянии природы модификатора на процесс полимеризации. Применяемые формы целлюлозы отличаются, в первую очередь, функциональными группами на поверхности, а также размером частиц.

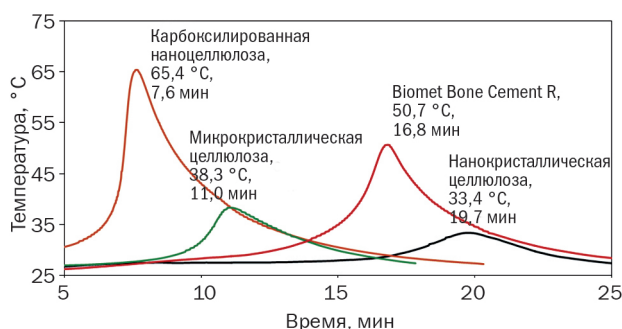


Рис. 2. Температура полимеризации образцов костного цемента на основе полиметилметакрилата и различных форм целлюлозы

Fig. 2. Polymerization temperature of bone cement samples based on polymethylmethacrylate and various forms of cellulose

КНЦ представляет собой наноразмерную форму целлюлозы, поверхность которой химически модифицирована для введения карбоксильных групп. Основными и наиболее значимыми функциональными группами КНЦ являются карбоксильные/карбоксилатные группы ($-\text{COOH}/-\text{COO}^-$), также присутствуют гидроксильные группы ($-\text{OH}$), которые были в составе исходного полимера. В

процессе ТЕМПО-опосредованного окисления селективно окисляются первичные гидроксильные группы $-\text{OH}$ до карбоксильных групп $-\text{COOH}$ с минимальным образованием альдегидных групп.

МКЦ является частично деполимеризованной и очищенной формой целлюлозы, получаемой в основном методом кислотного гидролиза. В отличие от КНЦ МКЦ не подвергается целенаправленной химической модификации для введения новых групп и содержит те же функциональные группы, что и исходная нативная целлюлоза, то есть первичные гидроксильные группы ($-\text{CH}_2\text{OH}$) и вторичные гидроксильные группы ($-\text{CHOH}$). В МКЦ практически отсутствуют карбоксильные ($-\text{COOH}$) и карбонильные ($\text{C}=\text{O}$) группы в значимых количествах.

НКЦ представляет собой высококристаллические, игольчатые наночастицы, выделенные из целлюлозных волокон. Внутренняя структура кристалла состоит из целлюлозных цепей, связанных водородными связями, где доминируют гидроксильные группы. Однако на поверхности кристалла часть этих групп становится доступной для химического взаимодействия. Состав функциональных групп на поверхности НКЦ напрямую зависит от метода ее получения, а именно типа кислоты, используемой для гидролиза. При гидролизе серной кислотой, являющемся наиболее распространенным методом, образуются сульфатные эфирные группы ($-\text{OSO}_3^-/-\text{OSO}_3\text{H}$). В НКЦ, полученной кислотным гидролизом, практически нет карбоксильных групп.

Эти различия достаточно сильно отражаются на процессе полимеризации, что проявляется в изменении максимальной температуры и времени ее достижения при затвердевании образцов. Заметно различается время полимеризации, которое увеличивается в ряду композитов с КНЦ, МКЦ, НКЦ. В этом же ряду уменьшается температура полимеризации, что свидетельствует о замедлении и снижении активности протекания процесса полимеризации.

В композите ПММА и наноцеллюлозы, полученном суспензионной полимеризацией MMA в воде, взаимодействие компонентов обеспечивается комбинацией физических, химических и механических сил. Все используемые в работе виды целлюлозы имеют размеры от 50 мкм до нескольких нанометров в диаметре. Коллоидные частицы целлюлозы имеют гидрофильную (из-за гидроксильных и карбоксильных групп) и частично гидрофобную (в зависимости от поверхности) природу. Они адсорбируются на границе раздела капли мономера MMA (или растущей частицы ПММА) и воды. Добавляемые в систему поверхностно-активные вещества способствуют снижению поверхностного натяжения на границе фаз и уменьшают размеры капель MMA, на поверхности которых адсорбируются коллоидные частицы целлюлозы, образуя механический барьер, препятствующий коалесценции капель мономера, и стабилизируя систему. После завершения полимеризации, протекающей в присутствии персульфата аммония, микро- и наночастицы целлюлозы, находящиеся на поверхности или в объеме твердого ПММА, прочно удерживаются в композите за счет механического включения в твердую матрицу, а также за счет водородных связей $-\text{OH}$ и $-\text{COOH}$ (в случае КНЦ) с карбонильными группами ПММА. Определенный вклад вносит и взаимодействие посредством сил Ван-дер-Ваальса, которое может играть

значительную роль при участии наноразмерных объектов (НКЦ, КНЦ) с высокой удельной поверхностью. В результате полученный композит, состоящий из гидрофильных и гидрофобных компонентов, представляет собой механически прочный материал, хорошо смачиваемый как водой, так и полярными апротонными растворителями (ацетон, ММА).

Анализ методом гель-проникающей хроматографии показал, что молекулярная масса композита с КНЦ ниже, чем масса образцов с МКЦ и НКЦ (среднечисловая молекулярная масса ПММА-КНЦ сопоставима с массой ПММА-НКЦ, а средневесовая молекулярная масса заметна меньше, что свидетельствует о меньших значениях и меньшем вкладе более высокомолекулярной части распределения молекулярных масс. В ряду КНЦ, МКЦ, НКЦ возрастает индекс полидисперсности (табл. 2), что коррелирует со временем полимеризации, то есть чем дольше и медленнее протекает процесс полимеризации, тем более полидисперсный и неоднородный по молекулярной массе получается образец. Наиболее близким к коммерческому образцу сравнения Biomet

Таблица 2. Характеристические параметры распределения молекулярной массы полученных образцов композитов полиметилметакрилата с биополимерами

Table 2. Characteristic parameters of the molecular weight distribution of the obtained samples of polymethylmethacrylate composites with biopolymers

Биополимер в составе костного цемента	M_n , г/моль	M_w , г/моль	Индекс полидисперсности M_w/M_n
Карбоксилированная наноцеллюлоза	103646	993374	9,6
Микрокристаллическая целлюлоза	241680	5157686	21,3
Нанокристаллическая целлюлоза	99003	3282765	33,2
Biomet Bone Cement R	22210	114252	5,1

Примечание. M_n – среднечисловая молекулярная масса; M_w – средневесовая молекулярная масса.

Bone Cement R по параметрам распределения молекулярной массы является композит с КНЦ.

Влияние на процесс полимеризации различных форм целлюлозы в качестве добавки в составе костных цементов проявляется и в изменении механических свойств получаемых образцов (табл. 3). На прочность костного цемента влияет также размер частиц материала модификатора, их равномерное распределение в образце и смачиваемость мономером. По результатам исследований все формы целлюлозы привели к снижению прочности образцов как на излом, так и на разрыв по сравнению с контрольным образцом коммерческого костного цемента Biomet Bone Cement R, в состав которого не входят какие-либо добавки на основе целлюлозы. Наименее негативное влияние оказывала КНЦ. При этом в случае испытания на разрыв различия образца с КНЦ и контрольного коммерческого образца оказались минимальны.

Изображения формы и структуры композитов ПММА – биополимер, полученные методом сканирующей электронной микроскопии, приведены на рис. 3. Для всех образцов характерны небольшие размеры частиц и узкое распределение размеров. Химические и структурные особенности молекул биополимеров, вероятно, влияют на их коагуляцию и агрегацию в реакционной смеси при получении композита, а также при последующем процессе сушки, в результате чего формируются морфологические особенности получаемых композитных материалов на основе ПММА и биополимеров. Композит ПММА – КНЦ имеет несколько более рыхлую и дискретную структуру по сравнению с более монолитными композитами ПММА – МКЦ и ПММА – НКЦ, что является преимуществом в дальнейшем получении костного цемента – при смешении композита с мономером ММА более эффективно проникает в такую структуру и смачивает ее, что приводит к более высоким показателям усилия на разрыв ПММА – КНЦ по сравнению с другими исследованными композитами.

При дальнейшем получении образцов костных цементов с использованием композитов на основе ПММА – биополимера частицы биополимера образуют

Таблица 3. Результаты исследования механических свойств образцов костных цементов с биополимерами

Table 3. Results of the study of mechanical properties of bone cement samples with biopolymers

Композит	Пластины (испытания на излом)				Лопатки (испытания на разрыв)			
	Нагрузка, Н	Удельная нагрузка, Н/мм	Среднее значение	Стандартное отклонение	Нагрузка, Н	Удельная нагрузка, Н/мм ²	Среднее значение	Стандартное отклонение
Полиметилметакрилат – карбоксилированная наноцеллюлоза	48,4	12,74	15,62	3,02	226,4	16,85	22,00	7,20
	67,6	15,36			377,3	30,23		
	86,3	18,76			275,7	18,94		
Полиметилметакрилат – микрокристаллическая целлюлоза	72,6	15,45	15,79	1,55	227,6	13,26	16,65	2,96
	80,8	14,43			258,2	17,99		
	97,9	17,48			218,8	18,70		
Полиметилметакрилат – нанокристаллическая целлюлоза	30,1	7,00	6,77	0,56	135,4	14,25	13,18	1,49
	28,8	6,13			112,0	11,49		
	32,3	7,18			131,2	13,81		
Biomet Bone Cement R	108,8	26,54	20,50	6,23	165,6	27,06	22,69	3,89
	77,2	20,86			192,2	21,43		
	45,1	14,09			213,9	19,59		

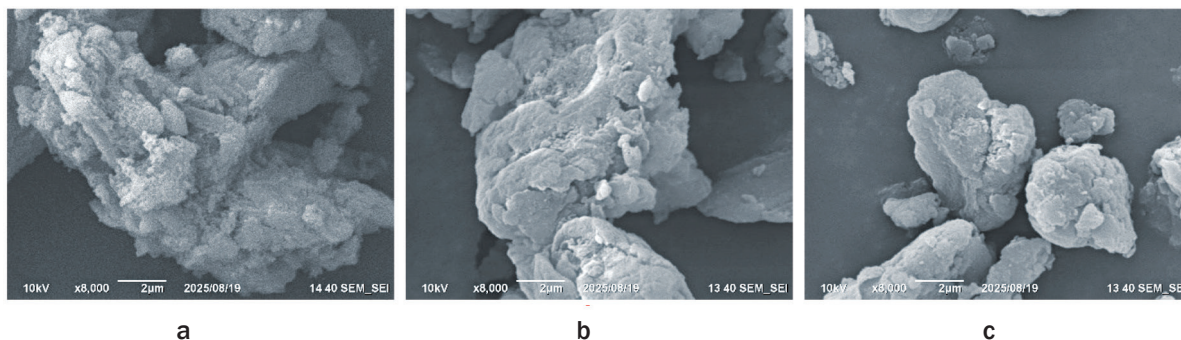


Рис. 3. Полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии изображения композитов на основе карбоксилированной наноцеллюлозы (а), микрокристаллической целлюлозы (b), нанокристаллической целлюлозы (с) при увеличении 8000×

Fig. 3. Scanning electron microscopy images of composites based on carboxylated nanocellulose (a), microcrystalline cellulose (b), nanocrystalline cellulose (c) at magnification 8000×

кластеры, формирующие водопроницаемые каналы, пронизывающие весь объем гидрофобной матрицы, за счет чего происходит улучшение транспортных и сорбционных свойств.

Образование кластеров (агломератов) гидрофильных частиц наноцеллюлозы в гидрофобной матрице ПММА при росте концентрации целлюлозы является термодинамическим процессом. Нано- и микрокристаллы целлюлозы имеют высокую поверхностную энергию благодаря обилию гидроксильных и карбоксильных групп, придающих материалу гидрофильность. ПММА имеет низкую поверхностную энергию и обладает гидрофобными свойствами. С точки зрения термодинамики образование большой площади границы раздела между этими двумя фазами в системе энергетически невыгодно. Стремление минимизировать общую площадь контакта приводит к объединению отдельных гидрофильных частиц в кластеры с меньшей удельной поверхностью. При низком содержании частиц целлюлозы происходит их достаточно равномерное диспергирование в композите и разделение слоями ПММА. С ростом концентрации целлюлозы среднее расстояние между частицами уменьшается, и при перемешивании или за счет броуновского движения образование кластеров становится более вероятным, чему также способствует образование водородных связей. При достижении критической концентрации целлюлозы можно наблюдать так называемый порог перколяции, когда из подобных кластеров формируются непрерывные цепочки, образующие единую сеть, которая обеспечивает доступ и диффузию воды и растворенных в ней веществ с внешней поверхности в объем композита. Это также отражается и в изменении краевого угла смачиваемости поверхности.

В результате, как было показано ранее [29], костные цементы с целлюлозой демонстрируют более интенсивное и длительное выделение антибиотика. Общее количество высвобождающегося антибиотика на порядок превышает

показатели для коммерческих костных цементов без биополимеров в составе. Однако компромиссным при этом оставался вопрос об однородности состава и структуры образцов и их механических свойствах. Как правило, большинство наполнителей (антибиотики или рентген-контрастные добавки) снижают прочность цемента, из-за чего их содержание ограничивается уровнем не более 5% масс. Предложенный способ получения композитного материала путем предварительного синтеза ПММА на волокнах целлюлозы в случае КНЦ позволяет минимизировать изменения механической прочности по сравнению с контрольным образцом костного цемента Biomet Bone Cement R (см. табл. 3). Таким образом, возможно получить модифицированный костный цемент с аналогичными механическими свойствами, как у коммерческих образцов, но со значительно более развитыми функциональными свойствами, связанными с диффузией воды и антибиотика. Кроме того, можно ожидать повышение биосовместимости и остеокондуктивности композита за счет изменения структуры материала и смачиваемости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенной работы исследован способ создания композитного материала на основе ПММА и биополимеров, позволяющий получать составы для акрилатных костных цементов с равномерным распределением наноцеллюлозы в объеме материала. Такой способ модификации костного цемента КНЦ позволил синтезировать образцы костного цемента с модифицированным составом, но сопоставимыми механическими свойствами по сравнению с классическими коммерческими составами. Получаемый при этом модифицированный костный цемент характеризуется значительно более развитыми функциональными свойствами, такими как увеличенная длительность и повышенная эффективность высвобождения антибиотика.

REFERENCES

1. Seesala V.S., Sheikh L., Basu B., Mukherjee S. Mechanical and bioactive properties of PMMA bone cement: a review. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2024;10(10):5939-5959. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.4c00779.

2. Merajikhah A., Soleimani M. Bone cement and occupational hazards for healthcare providers and patients: a narrative review. *Current Surgery Reports*. 2024;12(8):252-259. DOI: 10.1007/s40137-024-00408-w.

3. Stojkovic M., Milovanovic J., Vitkovic N., Trajanovic M., Grujovic N., Milivojevic V., et al. Reverse modeling and solid free-form fabrication of sternum implant. *Australasian Physical & Engineering Sciences in Medicine*. 2010;33(3):243-250. DOI: 10.1007/s13246-010-0029-1.
4. Provenzano M.J., Murphy K.P.J., Riley L.H. Bone cements: review of their physiochemical and biochemical properties in percutaneous vertebroplasty. *American Journal of Neuroradiology*. 2004;25(7):1286-1290.
5. Kuehn K.-D., Ege W., Gopp U. Acrylic bone cements: composition and properties. *Orthopedic Clinics of North America*. 2005;36(1):17-28. DOI: 10.1016/j.ocl.2004.06.010.
6. Lewis G. Properties of acrylic bone cement: state of the art review. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1997;38(2):155-182. DOI: 10.1002/(sici)1097-4636(199722)38:2<155::aid-jbm10>3.0.co;2-c.
7. Magnan B., Bondi M., Maluta T., Samaila E., Schirru L., Dall'Oca C. Acrylic bone cement: current concept review. *Musculoskeletal Surgery*. 2013;97(2):93-100. DOI: 10.1007/s12306-013-0293-9.
8. Saleh K.J., El Othmani M.M., Tzeng T.H., Mihalko W.M., Chambers M.C., Grupp T.M. Acrylic bone cement in total joint arthroplasty: a review. *Journal of Orthopaedic Research*. 2016;34(5):737-744. DOI: 10.1002/jor.23184.
9. Balato G., Roscetto E., Vollaro A., Galasso O., Gasparini G., Ascione T., et al. Bacterial biofilm formation is variably inhibited by different formulations of antibiotic-loaded bone cement in vitro. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*. 2019;27(6):1943-1952. DOI: 10.1007/s00167-018-5230-x.
10. Gao Z., Kan Y.-C., Xie Y.-H., Guo R., Li C., Xu Y., et al. A review on non-leaching antibacterial bone cement for orthopedic surgery: from past to current insights. *AIP Advances*. 2023;13(10):1-10. DOI: 10.20944/preprints202308.1315.v1.
11. Opalko M., Bösebeck H., Vogt S. Properties and clinical application safety of antibiotic-loaded bone cement in kyphoplasty. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2019;14(1):238. DOI: 10.1186/s13018-019-1200-3.
12. Chang Y.H., Tai C.L., Hsu H.Y., Hsieh P.H., Lee M.S., Ueng S.W.N. Liquid antibiotics in bone cement. *Bone & Joint Research*. 2014;3(8):246-251. DOI: 10.1302/2046-3758.38.2000305.
13. Van Mullem P.J., de Wijn J.R., Vaandrager J.M. Porous acrylic cement: evaluation of a novel implant material. *Annals of Plastic Surgery*. 1988;21(6):576-582. DOI: 10.1097/0000637-198812000-00015.
14. Schreurs B.W., Spierings P.T., Huiskes R., Slooff T.J. Effects of preparation techniques on the porosity of acrylic cements. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1988;59(4):403-409. DOI: 10.3109/17453678809149391.
15. Bao L., Li X., Qi Y., Wang Z., Li J. PEG/SBA-15-containing acrylic bone cement with enhanced drug release. *Chemical Engineering Science*. 2020;215:115379. DOI: 10.1016/j.ces.2019.115379.
16. Chao B., Jiao J., Yang L., Wang Y., Yu T., Liu H., et al. Comprehensive evaluation and advanced modification of polymethylmethacrylate cement in bone tumor treatment. *Journal of Materials Chemistry B*. 2023;11(39):9369-9385. DOI: 10.1039/d3tb01494k.
17. Rasyid H.N., van der Mei H.C., Frijlink H.W., Soegijoko S., van Horn J.R., Busscher H.J., et al. Concepts for increasing gentamicin release from handmade bone cement beads. *Acta Orthopaedica*. 2009;80(5):508-513. DOI: 10.3109/17453670903389782.
18. Kenny S.M., Buggy M. Bone cements and fillers: a review. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2003;14(11):923-938. DOI: 10.1023/a:1026394530192.
19. Lee S.J., Yoo J.J., Atala A. Biomaterials and tissue engineering. In: Kim B.W. (ed.). *Clinical Regenerative Medicine in Urology*. Singapore: Springer; 2017, p. 17-51. DOI: 10.1007/978-981-10-2723-9_2.
20. Harper E.J. Bioactive bone cements. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*. 1998;212(2):113-120. DOI: 10.1243/0954411981533881.
21. Robu A., Antoniac A., Ciocoiu R., Grosu E., Rau J.V., Fosca M., et al. Effect of the Antimicrobial Agents Peppermint Essential Oil and Silver Nanoparticles on Bone Cement Properties. *Biomimetics*. 2022;7(3):137. DOI: 10.3390/biomimetics7030137.
22. Verné E., Bruno M., Miola M., Maina G., Bianco C., Cochis A., et al. Composite bone cements loaded with a bioactive and ferrimagnetic glass-ceramic: leaching, bioactivity and cytocompatibility. *Materials Science and Engineering: C*. 2015;53:95-103. DOI: 10.1016/j.msec.2015.03.039.
23. Wei W., Abdullayev E., Hollister A., Mills D., Lvov Y.M. Clay nanotube/poly(methyl methacrylate) bone cement composites with sustained antibiotic release. *Macromolecular Materials and Engineering*. 2012;297(7):645-653. DOI: 10.1002/mame.201100309.
24. Zheng X., Wang Y., Liu J., Han J., Cui Z., Wu S., et al. Gelatin/gentamicin sulfate-modified PMMA bone cement with proper mechanical properties and high antibacterial ability. *Materials Research Express*. 2022;9(3):035405. DOI: 10.1088/2053-1591/ac5e1f.
25. Chen L., Tang Y., Zhao K., Zha X., Liu J., Bai H., et al. Fabrication of the antibiotic-releasing gelatin/PMMA bone cement. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2019;183:110448. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.110448.
26. Azuara G., García-García J., Ibarra B., Parra-Ruiz F.J., Asúnsolo A., Ortega M.A., et al. Experimental study of the application of a new bone cement loaded with broad spectrum antibiotics for the treatment of bone infection. *Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología (English Edition)*. 2019;63(2):95-103. DOI: 10.1016/j.recot.2018.10.002.
27. Wang Q., Dong J.-F., Fang X., Chen Y. Application and modification of bone cement in vertebroplasty: a literature review. *Joint Diseases and Related Surgery*. 2022;33(2):467-478. DOI: 10.52312/jdrs.2022.628.
28. Ghasemi F., Jahani A., Moradi A., Ebrahimzadeh M.H., Jirofti N. Different modification methods of poly methyl methacrylate (PMMA) bone cement for orthopedic surgery applications. *Archives of Bone and Joint Surgery*. 2023;11(8):485-492. DOI: 10.22038/ABJS.2023.71289.3330.
29. Cherednichenko K., Sayfutdinova A., Rimashevskiy D., Malik B., Panchenko A., Kopitsyna M., et al. Composite bone cements with enhanced drug elution. *Polymers*. 2023;15(18):3757. DOI: 10.3390/polym15183757.
30. Wang Z., Nogueira L.P., Haugen H.J., Van Der Geest I.C., de Almeida Rodrigues P.C., Janssen D., et al. Dual-functional porous and cisplatin-loaded polymethylmethacrylate cement for reconstruction of load-bearing bone defect kills bone tumor cells. *Bioactive Materials*. 2022;15:120-130. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2021.12.023.

31. Virto M.R., Frutos P., Torrado S., Frutos G. Gentamicin release from modified acrylic bone cements with

lactose and hydroxypropylmethylcellulose. *Biomaterials*. 2003;24(1):79-87. DOI: 10.1016/s0142-9612(02)00254-5.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Копицын Дмитрий Сергеевич,

к.т.н., ведущий научный сотрудник,
Российский государственный университет нефти
и газа (национальный исследовательский
университет) имени И. М. Губкина,
119991, г. Москва, пр. Ленинский, 65,
корп. 1, Российская Федерация,
✉ kopicin.d@inbox.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5791-4917>

Оболенский Владимир Николаевич,

к.м.н., доцент,
Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова,
117513, г. Москва, ул. Островитянова, 1,
Российская Федерация,
заведующий Центром гнойной хирургии,
Городская клиническая больница
имени В.П. Демикова Департамента
здравоохранения города Москвы,
115280, г. Москва, ул. Велозаводская, 1/1,
Российская Федерация,
gkb13@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1276-5484>

Доронина Оксана Александровна,

к.б.н., исполняющий обязанности
директора инжинирингового центра,
Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова,
117513, г. Москва, ул. Островитянова, 1,
Российская Федерация,
doronina-oa@rsmu.ru
<https://orcid.org/0009-0002-3001-0501>

Римашевский Денис Владимирович,

к.м.н., доцент,
Российский университет дружбы народов
имени Патриса Лумумбы,
117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6,
Российская Федерация,
rimashevskiy-dv@rudn.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5791-4917>

Оснач Станислав Александрович,

врач-травматолог,
Центр хирургии стопы,
Городская клиническая больница
имени С.С. Юдина Департамента
здравоохранения города Москвы,
115487, г. Москва, Коломенский проезд, 4,
Российская Федерация,
stas-osnach@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4943-3440>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Dmiry S. Kopicyn,

Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher,
National University of Oil and Gas
“Gubkin University”,
65, Leninsky Ave., Moscow, 119991,
Russian Federation,
✉ kopicin.d@inbox.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5791-4917>

Vladimir N. Obolenskiy,

Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor,
N.I. Pirogov Russian National
Research Medical University,
1, Ostrovityanova St., Moscow, 117513,
Russian Federation,
Head of Septic Surgery,
V.P. Demikhov City Clinical Hospital,
1/1, Velozavodskaya St., Moscow, 115280,
Russian Federation,
gkb13@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1276-5484>

Oksana A. Doronina,

Cand. Sci. (Biology), Acting Head
of the Engineering Center,
N.I. Pirogov Russian National
Research Medical University,
1, Ostrovityanova St., Moscow, 117513,
Russian Federation,
doronina-oa@rsmu.ru
<https://orcid.org/0009-0002-3001-0501>

Denis V. Rimashevskiy,

Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor,
RUDN University,
6, Miklukho-Maklaya St., Moscow, 117198,
Russian Federation,
rimashevskiy-dv@rudn.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5791-4917>

Stanislav A. Osnach,

Traumatologist,
Center for Foot Surgery,
S.S. Yudin City Clinical Hospital,
4, Kolomenskiy Proezd, Moscow, 115487,
Russian Federation,
stas-osnach@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4943-3440>

Тоузаков Филипп Сергеевич,
инженер-исследователь,
Российский государственный университет нефти
и газа (национальный исследовательский
университет) имени И. М. Губкина,
119991, г. Москва, пр. Ленинский, 65,
корп. 1, Российская Федерация,
filipptouzakov@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0003-5184-5871>

Кичесов Михаил Сергеевич,
инженер-исследователь,
Российский государственный университет нефти
и газа (национальный исследовательский
университет) имени И. М. Губкина,
119991, г. Москва, пр. Ленинский, 65,
корп. 1, Российская Федерация,
mihail.kichesov@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0001-4933-6360>

Винокуров Владимир Арнольдович,
д.х.н., профессор, заведующий кафедрой,
Российский государственный университет нефти
и газа (национальный исследовательский
университет) имени И. М. Губкина,
119991, г. Москва, пр. Ленинский, 65,
корп. 1, Российская Федерация,
vladimir@vinokurov.me
<https://orcid.org/0000-0002-0570-6577>

Filipp S. Touzakov,
Research Engineer,
National University of Oil and Gas
“Gubkin University”,
65, Leninsky Ave., Moscow, 119991,
Russian Federation,
filipptouzakov@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0003-5184-5871>

Mihail S. Kichesov,
Research Engineer,
National University of Oil and Gas
“Gubkin University”,
65, Leninsky Ave., Moscow, 119991,
Russian Federation,
mihail.kichesov@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0001-4933-6360>

Vladimir A. Vinokurov,
Dr. Sci. (Chemistry), Professor,
Head of the Department,
National University of Oil and Gas
“Gubkin University”,
65, Leninsky Ave., Moscow, 119991,
Russian Federation,
vladimir@vinokurov.me
<https://orcid.org/0000-0002-0570-6577>

Вклад авторов

Д.С. Копицын – разработка концепции,
проведение исследования,
написание черновика рукописи.
В.Н. Оболенский – редактирование рукописи.
О.А. Доронина – редактирование рукописи.
Д.В. Римашевский – редактирование рукописи.
С.А. Оснач – редактирование рукописи
Ф.С. Тоузаков – разработка методологии,
проведение исследования.
М.С. Кичесов – проведение исследования,
валидация результатов.
В.А. Винокуров – разработка концепции,
научное руководство.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 21.10.2025.
Одобрена после рецензирования 23.12.2025.
Принята к публикации 16.01.2026.

Contribution of the authors

Dmiry S. Kopitsyn – conceptualization,
investigation, writing – original draft.
Vladimir N. Obolenskiy – editing.
Oksana A. Doronina – editing.
Denis V. Rimashevskiy – editing.
Stanislav A. Osnach – editing.
Filipp S. Touzakov – methodology, investigation.
Mihail S. Kichesov – investigation, validation.
Vladimir A. Vinokurov – conceptualization,
supervision.

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 21.10.2025.
Approved after reviewing 23.12.2025.
Accepted for publication 16.01.2026.



Выявление целлюлозолитической активности штаммов энтомопатогенной бактерии *Bacillus thuringiensis*

А.В. Крыжко

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Российская Федерация

Аннотация. Исследование механизмов разложения целлюлозы у штаммов *Bacillus thuringiensis* представляет интерес для поиска новых перспективных продуцентов целлюлаз. Способность Cry3Aa белков *Bacillus thuringiensis* связываться с целлюлазой способствует увеличению стабильности токсинов в кишечнике насекомых. Определение целлюлазной активности проводили качественно при помощи красителя конго красного и количественным методом А.П. Синецына. Скорость разрушения целлюлозы измеряли методом Н.Л. Кристенсена. Ген целлюлазной активности *Bacillus thuringiensis* идентифицировали с помощью специфичных праймеров. Целью данной работы являлось изучение целлюлозолитической активности и детектирование генов целлюлазы в штаммах *Bacillus thuringiensis* Крымской коллекции микроорганизмов. В ходе исследования установлено, что все исследованные штаммы *Bacillus thuringiensis* с коэффициентом подобия, равным 92%, образовывали монофилетическую группу, характеризующуюся высокой степенью гомологии по гену целлюлазы и принадлежащую преимущественно к серотипам *thuringiensis*, *kurstaki* и *dendrolimus*. Максимальная целлюлазная активность, достигающая в среднем 0,25 мкг/мл, характерна для штаммов *Bacillus thuringiensis*, принадлежащих к серотипу *thuringiensis*, а максимальной целлюлозолитической активностью (в среднем до 80%) обладали штаммы, принадлежащие к серотипам *kurstaki* и *thuringiensis*. Подтверждены выраженные целлюлозолитические свойства для штаммов *Bacillus thuringiensis* 685, 792, 800, 926, 942, 989, 072, 0105, 0162, 0307, 0308, 0326, 0371, 0411, 0441, 0452, 0532, 0541, 41H1, 109H10,12-91, 177, 992. Обработка чернозема южного культурой штаммов *Bacillus thuringiensis* 072, 0105, 0326 способствует увеличению целлюлозолитических свойств чернозема южного до 99,5% относительно контроля.

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*, целлюлаза, ген, серотип, чернозем южный

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № FNZW-2022-0006.

Для цитирования: Крыжко А.В. Выявление целлюлозолитической активности штаммов энтомопатогенной бактерии *Bacillus thuringiensis* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 72–81. DOI: 10.21285/achb.1015. EDN: JBQXVQ.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Cellulolytic activity of strains of the entomopathogenic bacterium *Bacillus thuringiensis*

Anastasiia V. Kryzhko

Research Institute of Agriculture of Crimea, Simferopol, Russian Federation

Abstract. Studying the mechanisms of cellulose breakdown in *Bacillus thuringiensis* strains is of interest in the search for potential cellulase producers. Also, the ability of Cry3Aa proteins in *Bacillus thuringiensis* to bind to cellulase increases the stability of toxins in the insect gut. In the study, cellulase activity was determined qualitatively using Congo red dye and quantitatively via a method developed by A.P. Sinitsyn. The rate of cellulose

breakdown was measured employing the Christensen method. The cellulase gene in *Bacillus thuringiensis* was identified using specific primers. The study aimed to examine cellulolytic activity and detect cellulase genes in *Bacillus thuringiensis* strains from the Crimean collection of microorganisms. At a similarity coefficient of 92%, all the examined *Bacillus thuringiensis* strains were found to form a monophyletic group characterized by a high cellulase gene homology, which comprises predominantly the serotypes *thuringiensis*, *kurstaki*, and *dendrolimus*. Maximum cellulase activity, reaching an average of 0.25 µg/mL, was observed in *Bacillus thuringiensis* strains belonging to the *thuringiensis* serotype, while the maximum cellulolytic activity (on average up to 80%) was exhibited by strains belonging to the *kurstaki* and *thuringiensis* serotypes. Pronounced cellulolytic properties were confirmed in the *Bacillus thuringiensis* strains 685, 792, 800, 926, 942, 989, 072, 0105, 0162, 0307, 0308, 0326, 0371, 0411, 0441, 0452, 0532, 0541, 41H1, 109H10, 12-91, 177, and 992. Treatment of southern black earth with the *Bacillus thuringiensis* strains 072, 0105, and 0326 was found to increase its cellulolytic properties up to 99.5% relative to the control.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, cellulase, gene, serotype, southern black earth

Funding. The work was financially supported by the state assignment no. FNZW-2022-0006.

For citation: Kryzhko A.V. Cellulolytic activity of strains of the entomopathogenic bacterium *Bacillus thuringiensis*. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):72-81. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1015. EDN: JBQXVQ.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что целлюлазы играют ключевую роль в почвообразовании и круговороте углерода. В качестве основных родов целлюлозолитических микроорганизмов часто упоминают роды *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* и *Streptomyces* в лесах и *Bacillus*, *Streptomyces*, *Pseudomonas* и *Arthrobacter* в сельскохозяйственных почвах [1]. Аналитическая селекция целлюлозолитических бактерий основана на изучении их способности к гидролизу, для чего анализируется их рост на искусственных целлюлозных средах, а также способностью к окрашиванию конго красным или йодом. Часто прибегают к изучению целлюлолитической активности *in vitro*. Примечательно, что способность бактерий к гидролизу целлюлозы может не совпадать с выработкой ими целлюлозолитических ферментов [2]. Для точного детектирования целлюлозолитических бактерий целесообразно применять элементы геномного анализа. Поскольку целлюлазы имеют важное народно-хозяйственное значение и применяются в различных сферах человеческой деятельности – в медицине при производстве пробиотиков [3], ветеринарии [4], кулинарии, текстильной промышленности, отбеливании, производстве бумаги. Это подчеркивает важность обнаружения новых целлюлолитических штаммов в почве [5, 6].

Целлюлозолитическая активность установлена как для бактерий рода *Bacillus* [7], так и непосредственно для энтомопатогена *Bacillus thuringiensis* [8]. Хотя роль целлюлазы в механизме патогенности *B. thuringiensis* изучена слабо, установлено, что стабильность энтомоцидных белков класса Cry3Aa *B. thuringiensis* в пищеварительной системе личинок и гусениц насекомых зависит от его способности связываться с бактериальной целлюлазой [9]. Целлюлазы *B. thuringiensis*, как и целлюлазы других представителей этого рода, таких как *B. wiedmanii*, *B. subtilis*, *B. safensis*, применяются в качестве биоагентов препаратов для компостирования органических отходов [5].

Молекулярно-генетически целлюлаза *B. thuringiensis* исследована недостаточно. Актуальными являются как детекция соответствующего гена у представителей разных штаммов и серотипов энтомопатогенных бактерий, так и исследование его экспрессии под воздействием внешних факторов (состава среды, условий культивирования и пр.).

Целью данной работы являлось изучение целлюлозолитической активности и детектирование гена целлюлазы в штаммах *B. thuringiensis* Крымской коллекции микроорганизмов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Эксперимент и анализ полученных данных проводили на базе лаборатории молекулярной генетики, протеомики и биоинформатики в сельском хозяйстве Научно-исследовательского института сельского хозяйства Крыма (г. Симферополь, Россия). Материалом послужили штаммы *B. thuringiensis* Крымской коллекции микроорганизмов данного института, зарегистрированной на сайте Научно-технологической инфраструктуры Российской Федерации¹ под номером 507484.

Определение целлюлазной активности проводили методом Г.Л. Пиньейру, Р.Ф. Корреа (2015) на агаризованной питательной среде на основе казеин-пептона и дрожжевого экстракта с добавлением карбоксиметилцеллюлозы в качестве субстрата. Культуры испытуемых штаммов высевали на поверхность агаровой пластины в виде медальонов и культивировали в течение 7 суток при 27 °C, а затем окрашивали 0,1%-м раствором конго красного и отмывали 1 М раствором хлорида натрия. Зоны гидролиза карбоксиметилцеллюлозы окрашивались в желтый цвет, в то время как зоны, в которых отсутствовал гидролиз, становились ярко-красными [10]. В качестве контроля использовали чашки Петри, засеянные типовыми штаммами-продуцентами целлюлазы *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* B-1121 и *Paenibacillus lautus* B-11952, полученными из Национального биоресурсного центра «Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов» при Наци-

¹Научно-технологическая инфраструктура Российской Федерации // Скр-rf.ru. Режим доступа: <http://www.ckp-rf.ru> (дата обращения 13.01.2026).

ональном исследовательском центре «Курчатовский институт» – Государственном научно-исследовательском институте генетики и селекции промышленных микроорганизмов (г. Москва, Россия).

Для количественного определения целлюлазы в культуральной жидкости штаммов *B. thuringiensis* полоску фильтровальной бумаги массой 50 мг (1×6 см) помещали в стеклянную пробирку емкостью 15 мл и добавляли 1 мл 0,1 М ацетатного буфера с pH 4,5 или 0,05 М цитратного буфера с pH 4,8. Смесь инкубировали в течение 5–10 мин при 50 °С, добавляли 0,5 мл культуральной жидкости, подогретой до 50 °С. Смесь инкубировали при 50 °С 1 ч, после чего пробирку быстро охлаждали в холодной воде. Количество редуцирующих сахаров определяли против контрольной пробы, приготовленной и обработанной аналогично, но без фильтровальной бумаги. За единицу активности принимали количество фермента, который при действии на бумагу при 50 °С и pH 4,5–4,8 образует 1 мкмоль редуцирующих сахаров в минуту. Количество выделяющихся редуцирующих сахаров определяли методом Шомоди – Нельсона спектрофотометрически при длине волны 640 нм [11].

Скорость целлюлолитических процессов определяли модифицированным лабораторным методом Н.Л. Кристенсена (1981). Для этого отбирали образцы чернозема южного с глубины до 5 см и обрабатывали жидкими культурами штаммов *B. thuringiensis* с титром спор $0,4 \times 10^9$. Навеску 25 г почвы помещали на диск стерильной фильтровальной бумаги с заранее известным весом, размещенный на дне чашки Петри. Между фильтровальной бумагой и исследуемой почвой прокладывали слой тонкой капроновой ткани. Почву увлажняли до 60% от полной влагоемкости и помещали в термостат на 30 суток при температуре 27 °С. Эксперимент проводили в пяти повторностях. По окончании культивирования почву и капроновую ткань удаляли, остатки фильтровальной бумаги просушивали до воздушно-сухого состояния и взвешивали. Степень разложения целлюлозы определяли как разницу между исходной и конечной массой фильтровальной бумаги и выражали ее в процентах от исходной массы² [12].

Для подбора вырожденных праймеров для детекции гена целлюлазы использовали NZ_CP021061.1 из базы NCBI. Длина целевого гена составляет 1268 bp. Идентификацию генов целлюлазной активности штаммов *B. thuringiensis* проводили с помощью праймеров C3F 5'-CAGGAAATGAATGTAAGAGC-3' и C3R 5'-TCTTCTTCCCATATTCTGTC-3'. Длина продукта амплификации составляет 409 bp. Объем реакционной смеси составил 25 мкл и включал 5 мкл Screen Mix-HS («Евроген», Россия), содержащей 3 mM MgCl₂ и 0,12 mM дезоксирибонуклеозидтрифосфатов, а также 50 нг дезоксирибонуклеиновых кислот (ДНК). Амплификацию проводили с использованием термоциклера C1000tm Thermal Cycler (Bio-Rad, США) по следующему протоколу: 1 мин – начальная денатурация при 95 °С, затем 35 циклов – 30-секундная денатурация при 94 °С, 30 с – отжиг при 54 °С и 1 мин – элонгация при 72 °С, заключительная элонгация – 3 мин при 72 °С. Продукты полимеразной цепной реакции визуализировали

с помощью электрофореза в 1,5%-м агарозном геле с добавлением 5 мкл 1%-го раствора этидиум бромид. В качестве электролитного буфера использовали 5X трис-ацетатный электродный буфер. Размер полученных фрагментов измеряли с использованием программного обеспечения GelAnalyzer 23.1.1.

Нуклеотидные последовательности гена целлюлазы, полученные путем амплификации геномной ДНК штаммов *B. thuringiensis* с примерами C3, определили секвенированием по Сенгеру. Полученные последовательности выравнивали при помощи алгоритма Clustal X. В работе использовали такие методы реконструкции деревьев, как невзвешенная попарная группировка с усреднением (UPGMA), метод ближайшего соседа. При построении дендрограммы использовали метод максимального подобия и модель Тамура – Ней. Последовательности гена целлюлазы штаммов *B. thuringiensis*, полученные из базы NCBI, использовались в качестве референсных [13].

Активность штаммов анализировали с применением кластерного анализа методом *k*-средних, визуализацию описательных статистик проводили при помощи Microsoft Excel 2007 и прикладных статистических пакетов R [14].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Детекция гена целлюлазы, проведенная при помощи пары праймеров C3F и C3R, позволила идентифицировать искомую последовательность в геномах исследуемых штаммов *B. thuringiensis* (рис. 1).

Были определены нуклеотидные последовательности гена целлюлазы, полученные путем амплификации геномной ДНК штаммов *B. thuringiensis* с примерами C3. Полученные данные проанализировали при помощи филогенетического анализа. Все использованные методы (как UPGMA, так и метод ближайшего соседа) позволили реконструировать деревья, характеризующие филогенетические взаимоотношения между штаммами *B. thuringiensis*, основанные на последовательности гена целлюлазы, и установить их одинаковую топологию. Полученное филогенетическое дерево позволило визуализировать основные черты выявленных в результате анализа закономерностей (рис. 2).

Анализ полученного филогенетического древа показал низкую генетическую изменчивость гена целлюлазы в штаммах изученной коллекции. Все штаммы *B. thuringiensis* с коэффициентом подобия, равным 92%, образовывали монофилетическую группу, объединяясь с типовыми штаммами *B. thuringiensis* serovar *thuringiensis* T01001 (ACNA01000078.1), *B. thuringiensis* serovar *berliner* ATCC 10792 (ACNF01000080.1) [15], а также штаммами *B. thuringiensis* GOE2 (LXLG01000022.1) и *B. thuringiensis* GOE3 (LXLH01000033.1). Внутри данной группы выделили два обособленных кластера. Первый, выделившийся с коэффициентом подобия, равным 96%, состоял из референсных и коллекционных штаммов 836, 048, 917, 0304, 810, 888, 708, 854, 949. Второй кластер состоял из штаммов *B. thuringiensis* 0271, 942, 820, 815, 989, 0308, 0279, 41, 072, 926, 902, 800, 994 и 014. Установлено, что, хотя все штаммы *B. thuringiensis*, вошедшие в данную монофилетическую группу, имеют незначительное молекулярное разно-

² Круглов Ю.В. Методические рекомендации по оценке токсического действия пестицидов на микрофлору почвы. Л., 1981. 18 с.

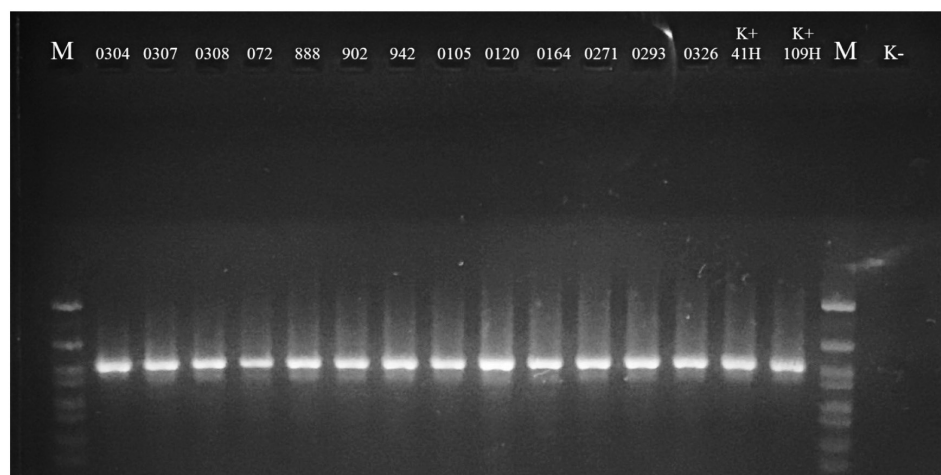


Рис. 1. Гель-электрофорез продуктов полимеразной цепной реакции, полученных в результате амплификации с праймерами СЗ (М – маркер длин дезоксирибонуклеиновых кислот (50+ bp DNA Ladder, «Евроген»); в верхней строчке указаны номера исследуемых штаммов; К+41Н и К+109Н – эталонные штаммы *Bacillus thuringiensis* 41 и 109)

Fig. 1. Gel electrophoresis of polymerase chain reaction products obtained by amplification with C3 primers (M – marker of DNA lengths (50+ bp DNA Ladder, “Eurogen”); the numbers of the studied strains are indicated in the upper line; K+41H and K+109H are the reference strains of *Bacillus thuringiensis* 41 and 109)

образии по гену целлюлазы, они относятся к разным серотипам (преимущественно *thuringiensis*, *kurstaki* и *dendrolimus*).

Исключение составил штамм *B. thuringiensis* serovar *thuringiensis* 98, выделившийся с коэффициентом подобия 74% в отдельную кладу вместе со штаммами *B. thuringiensis* MYBT18246 (CP015351.1) [16] и *B. thuringiensis* CGMCC (BMLD01000001.1) [17]. Известно, что штамм MYBT18246 обладает нематичесидной активностью, а штамм CGMCC был секвенирован в рамках глобального проекта по созданию Глобального каталога микроорганизмов.

Эффективность целлюлозолитических бактерий может быть оценена с помощью качественных и количественных методов определения целлюлозолитической активности. Качественный метод, предполагающий культивирование бактерий на поверхности питательной среды, содержащей только искусственные источники целлюлозы в качестве источника углерода, с последующей визуализацией зоны гидролиза целлюлозного субстрата при помощи красителя конго красного, показал среднюю и высокую активность исследованных штаммов *B. thuringiensis* (рис. 3). Отмечено образование ярко-желтого цвета питательной среды вокруг культур активных целлюлозолитических штаммов микроорганизмов *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* B-1121 и *Paenibacillus lautus* B-11952 (+++). Визуально цвет питательной среды вокруг медальонов с культурами исследуемых штаммов *B. thuringiensis* 98, 202, 708, 810, 815, 820, 836, 854, 888, 902, 917, 949, 994, 0304, 0332, 0337, 0361, 0363, 0374, 0376, 0379, 0399, 0465, 0474, 0486, 0493, 0502, 0534, 0544, 0568, 0570, Z-52, 358, 149, 192, 048 после отмывки от красителя указывал на наличие активного гидролиза карбоксиметилцеллюлозы, сопоставимого с активностью контрольных штаммов (+++). Культуры штаммов *B. thuringiensis* 685, 792, 800, 926, 942, 989, 072, 0105, 0162, 0307, 0308, 0326, 0371, 0411, 0441, 0452, 0532,

0541, 41H1, 109H10,12-91, 177, 992 по сравнению с контролем показывали средний уровень активности целлюлазы (++).

Установлено, что штаммы, входящие в первые два филогенетических кластера (см. рис. 1), достоверно отличались между собой по степени целлюлазной активности ($p = 0,00001$). Все штаммы первого кластера характеризовались как способные к активному гидролизу карбоксиметилцеллюлозы (+++), а среди штаммов, отнесенных ко второму кластеру, активных целлюлазообразователей насчитывалось лишь 43%.

Данные, полученные при качественном определении целлюлазной активности, подтвердились и при количественном изучении активности изучаемого фермента методом А.П. Синицына и оказались сопоставимыми с данными о целлюлозолитической активности чернозема южного, обработанного жидкими споровыми культурами изученных 73 штаммов *B. thuringiensis*.

Целлюлозолитические бактерии идентифицировали путем качественной оценки их способности гидролизовать целлюлозу. Этот процесс включает культивирование бактерий на среде, содержащей искусственную целлюлозу в качестве единственного источника углерода, и использование красителей, таких как конго красный или йод, для выявления колоний, способных утилизировать целлюлозу [2]. Некоторые исследователи утверждают, что способность гидролизовать целлюлозу не всегда напрямую связана с выработкой бактериями ферментов целлюлазы [18]. Метод на основе конго красного не дает информации о количестве вырабатываемых ферментов целлюлазы. Напротив, спектрофотометрические методы обеспечивают большую точность за счет количественного определения содержания редуцирующих сахаров с использованием специфических субстратов [19, 20].

Анализ результатов исследования целлюлазной активности штаммов *B. thuringiensis* показал перспективность штаммов *B. thuringiensis* 0271, 0371,

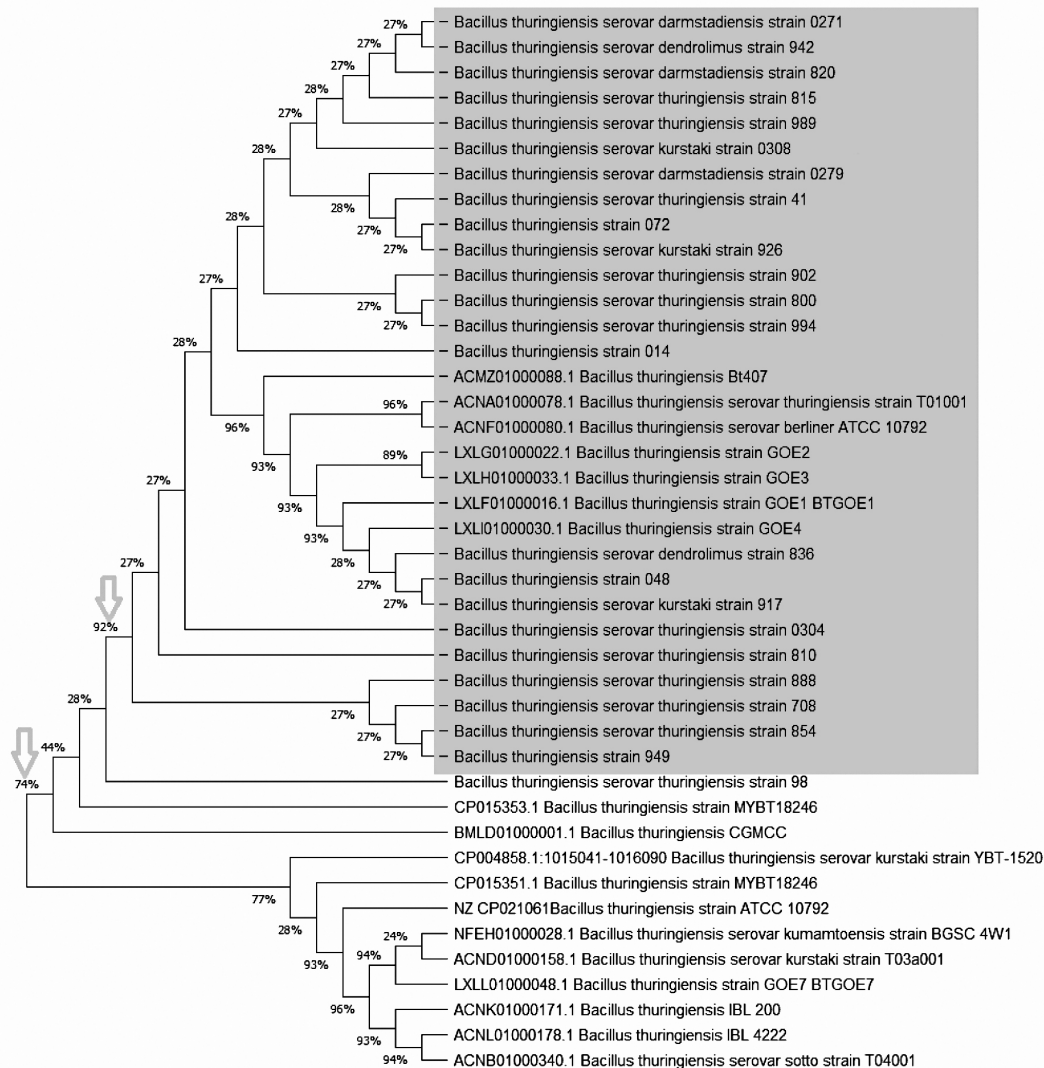


Рис. 2. Филогенетическое дерево последовательностей гена целлюлазы *Bacillus thuringiensis* (филогенетическое дерево получено с помощью метода максимального подобия с применением модели Тамура – Ней из 42 последовательностей; монофилетическая группа, куда входят штаммы *Bacillus thuringiensis* Крымской коллекции микроорганизмов, выделена; стрелки указывают на узлы, объединяющие основные монофилетические группировки, цифры у стрелок означают величину статистической поддержки этих узлов)

Fig. 2. Phylogenetic sequence tree of *Bacillus thuringiensis* cellulase gene (the phylogenetic tree was obtained using the maximum similarity method using the Tamura – Ney model of 42 sequences; the monophyletic group, which includes strains of *Bacillus thuringiensis* from the Crimean collection of microorganisms, has been isolated; the arrows indicate the nodes that unite the main monophyletic groupings, the numbers on the arrows indicate the amount of statistical support for these nodes)

800, 810, 888, 787, 926, 994, 989, 0271, 109-С, 0304, 10/Н, 39/Н, 42/Н, 072, 014, 0105.

Особо следует отметить, что при изучении целлюлозолизитической активности штаммов *B. thuringiensis* 815, 820, 994, 0304, 0332, 0337, 0361, 0363, 0374, 0376, 0379, 0399, 0465, 0474, 0486, 0493, 0502, 0534, 0544, 0568, 0570, Z-52, 358, 149, 192, 989, 994 и 0371 в черноземе южном во всех опытных вариантах наблюдали существенную интенсификацию исследуемого показателя, превышающую 50%. В варианте с использованием культуры штаммов 048, 072, 708, 810, 836, 854, 888, 902, 917, 949, 0105, 0304 и 0326 целлюлозолизитическая активность была максимальной и составила в среднем 82,0–93,7% по отношению к контролю (рис. 4).

Все полученные результаты кластеризовались методом *k*-средних в три кластера по степени целлюлозолизитических свойств. В первый кластер вошли штаммы, обладающие высокой (в среднем 0,2 мкг/мл) целлюлазной активностью и способствовавшие высокой целлюлозолизитической активности чернозема южного (в среднем 88,47% по отношению к контролю): 685, 792, 800, 926, 942, 989, 072, 0105, 0162, 0307, 0308, 0326, 0371, 0411, 0441, 0452, 0532, 0541, 41Н1, 109Н10, 12-91, 177, 992. Во второй кластер были объединены штаммы, обладающие высокой целлюлазной активностью (в среднем 0,21 мкг/мл) и способствовавшие увеличению целлюлозолизитической активности чернозема южного (в среднем до 68,8% по отношению к контролю): 98, 202,

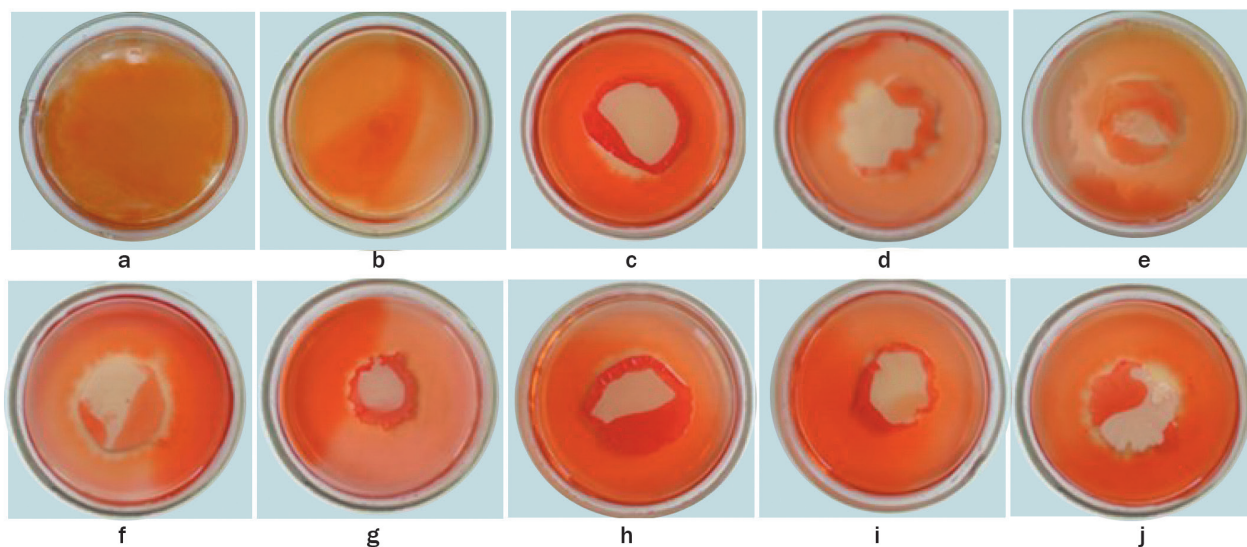


Рис. 3. Целлюлазная активность штаммов *Bacillus thuringiensis* на казеин-пептоновой питательной среде в присутствии карбоксиметилцеллюлозы после обработки красителем конго красным: а – *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* B-1121; б – *Paenibacillus lautus* B-11952; в – *Bacillus thuringiensis* 0105; д – *Bacillus thuringiensis* 926; е – *Bacillus thuringiensis* 800; ф – *Bacillus thuringiensis* 949; г – *Bacillus thuringiensis* 792; х – *Bacillus thuringiensis* 0493; и – *Bacillus thuringiensis* 0532; ж – *Bacillus thuringiensis* 708

Fig. 3. Cellulase activity of *Bacillus thuringiensis* strains on casein-peptone nutrient medium in the presence of carboxymethylcellulose after treatment with congo red dye: а – *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* B-1121; б – *Paenibacillus lautus* B-11952; в – *Bacillus thuringiensis* 0105; д – *Bacillus thuringiensis* 926; е – *Bacillus thuringiensis* 800; ф – *Bacillus thuringiensis* 949; г – *Bacillus thuringiensis* 792; х – *Bacillus thuringiensis* 0493; и – *Bacillus thuringiensis* 0532; ж – *Bacillus thuringiensis* 708

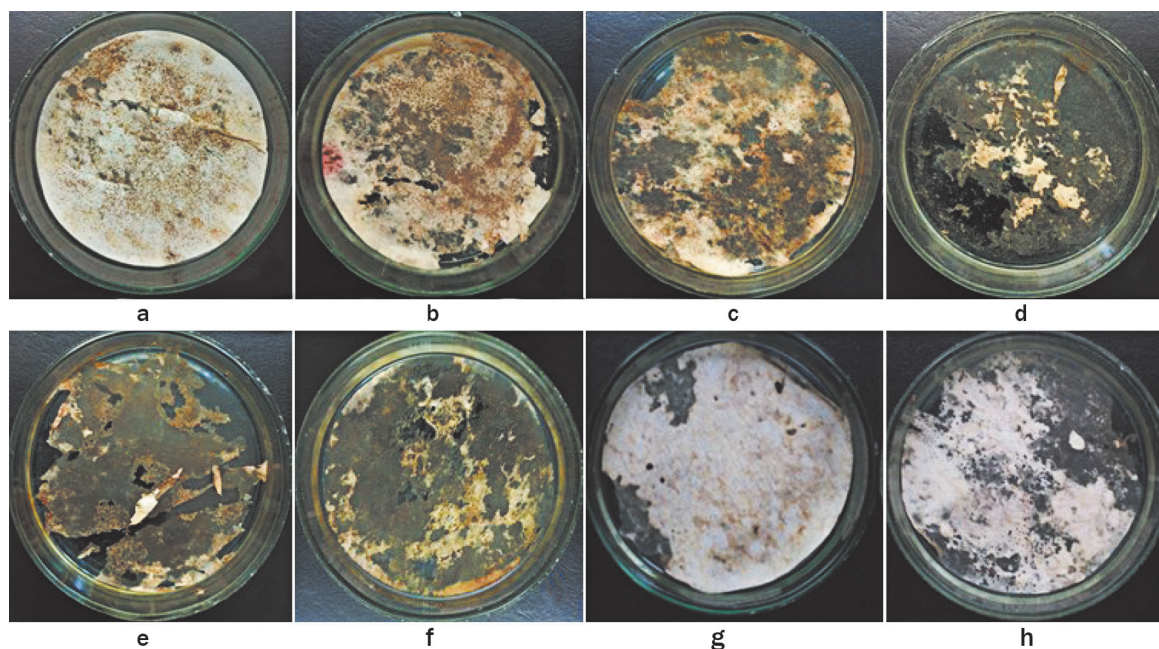


Рис. 4. Целлюлозолитическая активность чернозема южного, обработанного культурами штаммов *Bacillus thuringiensis*: а – контроль (вода); б – *Bacillus thuringiensis* 815; в – *Bacillus thuringiensis* 926; д – *Bacillus thuringiensis* 0105; е – *Bacillus thuringiensis* 072; ф – *Bacillus thuringiensis* 0326; г – *Bacillus thuringiensis* 0361; х – *Bacillus thuringiensis* 0371

Fig. 4. Cellulolytic activity of southern chernozem treated with *Bacillus thuringiensis* strains cultures: а – control (water); б – *Bacillus thuringiensis* 815; в – *Bacillus thuringiensis* 926; д – *Bacillus thuringiensis* 0105; е – *Bacillus thuringiensis* 072; ф – *Bacillus thuringiensis* 0326; г – *Bacillus thuringiensis* 0361; х – *Bacillus thuringiensis* 0371

708, 810, 815, 820, 854, 888, 902, 917, 994, 0332, 0337, 0361, 0363, 0374, 0376, 0379, 0399, 0465, 0474, 0486, 0493, 0502, 0534, 0544, 0568, 0570, Z-52, 358, 149, 192. Третий кластер составили 16 штаммов, имеющие низкую целлюлазную (0,15 мкг/мл) и целлюлолитическую активность (в среднем 40,83% по отношению к контролю). Таким образом удалось выделить наиболее активные штамма *B. thuringiensis* 072, 0105, 0326, обработка которыми способствует увеличению целлюлолитических свойств чернозема южного до 99,5% по отношению к контролю.

Поскольку исследованные штаммы принадлежали к разным серотипам, была осуществлена попытка соотнести активность целлюлазы штаммов *B. thuringiensis* и влияния данной бактерии на целлюлолитическую активность чернозема южного.

Установлено, что максимальная целлюлазная активность, достигающая в среднем 0,25 мкг/мл, оказалась характерной для штаммов *B. thuringiensis*, принадлежащих к серотипу *thuringiensis*. Совокупность штаммов *kurstaki* имеет широкий размах вариации, однако основная часть штаммов данного серотипа имеет целлюлазную активность в пределах 0,19–0,23 мкг/мл. Штаммы *darmstadiensis* и *dendrolimus* продуцировали целлюлазную активность в среднем в пределах 0,185–0,19 мкг/мл.

Целлюлолитическая активность почвы, обработанная жидкими споровыми культурами штаммов *B. thuringiensis*, принадлежащих к разным серотипам, зависит не только от целлюлазной активности самой культуры энтомопатогенных бактерий, но и от их способности вступать во взаимодействие с почвенной микрофлорой

и стимулировать либо, напротив, угнетать рост целлюлолитических микроорганизмов. Максимальной целлюлолитической активностью (в среднем до 80%) обладали штаммы, принадлежащие к серотипам *kurstaki* и *thuringiensis*. Наименьшей целлюлолитической активностью обладали штаммы серотипа *dendrolimus* (до 50%). Группа штаммов с неидентифицированной серотипической принадлежностью оказалась полиморфной по изучаемому признаку.

Для того чтобы определить степень связи между изученными признаками и таксономическим положением (принадлежностью к серотипу) штаммов *B. thuringiensis*, применялся дискриминационный анализ. Общая лямбда Уилкса, вычисленная для данного анализа, составила 0,33, значение F-статистики с числом степеней свободы 11 и 128 равно 11,689; $p < 0,005$, что свидетельствует об удовлетворительной дискриминации. При этом наиболее существенный вклад в разделительную силу модели внесла целлюлазная активность штаммов (0,78 мкг/мл), нежели целлюлолитическая активность почвы (0,42 мкг/мл). Анализ качества классификации и степени неоднородности полученных групп штаммов оценивали путем расчета квадратов расстояний Махаланобиса. Полученные данные позволили заключить, что наибольшие различия можно наблюдать между группами *kurstaki* – *dendrolimus*, *kurstaki* – *darmstadiensis* и *kurstaki* – *thuringiensis*, характеризующимися максимальными расстояниями между центрами групп – 22,77, 15,49 и 13,15 соответственно. Достоверных различий между группами *unidentified* – *thuringiensis* отмечено не было. Данные зависимости представлены в виде диаграммы рассеяния канонических

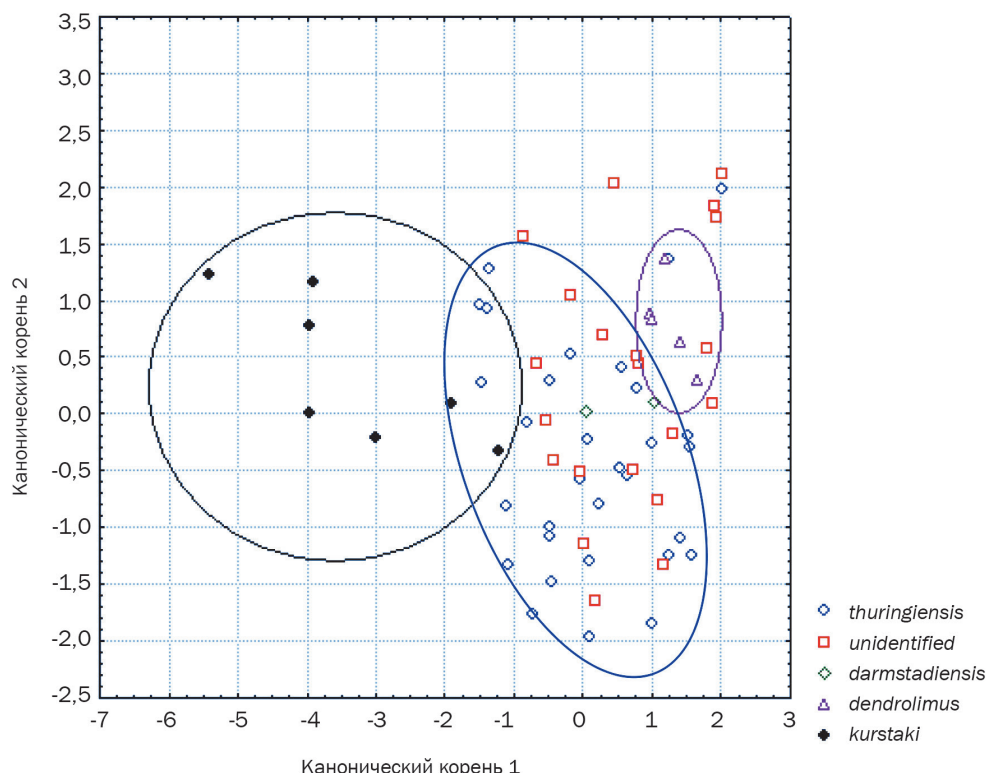


Рис. 5. Диаграмма рассеяния канонических значений целлюлазной активности штаммов *Bacillus thuringiensis* от их целлюлолитической активности для пар значений дискриминантных функций

Fig. 5. Scattering diagram of canonical values of *Bacillus thuringiensis* strains cellulase activity from their cellulolytic activity for pairs of discriminant functions values

значений целлюлазной активности штаммов *B. thuringiensis* от их целлюлозолитической активности для пар значений дискриминантных функций (рис. 5).

Таким образом, установлена тенденция к наличию связи между принадлежностью исследованных штаммов *B. thuringiensis* к серотипам *kurstaki* и *thuringiensis* и наличию у них статистически значимых целлюлозолитических свойств. Вместе с тем показано, что штаммы серотипа *dendrolimus* не только обладали наименьшей целлюлозолитической активностью, но и достоверно дискриминировались от остальных изученных групп.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенной работы протестирован ген целлюлазы в штаммах *B. thuringiensis* Крымской коллекции микроорганизмов. Установлено, что все исследованные коллекционные штаммы *B. thuringiensis* с коэффициентом подобия, равным 92%, образовывали монофилетическую группу, характеризующуюся высокой степенью гомологии по гену целлюлазы и принадлежащую преимущественно к серотипам *thuringiensis*, *kurstaki* и *dendrolimus*.

Установлено наличие целлюлазной активности культуральной жидкости штаммов *B. thuringiensis*.

Показано, что внесение в чернозем южный культуры штаммов *B. thuringiensis* 072, 0105, 0326, способствует увеличению целлюлозолитических свойств почвы до 99,5% по отношению к контролю.

Описана перспективность штаммов *B. thuringiensis* 685, 792, 800, 926, 942, 989, 072, 0105, 0162, 0307, 0308, 0326, 0371, 0411, 0441, 0452, 0532, 0541, 41H1, 109H10, 12-91, 177, 992 как обладающих выраженными целлюлозолитическими свойствами.

Показано, что максимальная целлюлазная активность, достигающая в среднем 0,25 мкг/мл, оказалась характерной для штаммов *B. thuringiensis*, принадлежащих к серотипу *thuringiensis*, а максимальной целлюлозолитической активностью (в среднем до 80%) обладали штаммы, принадлежащие к серотипам *kurstaki* и *thuringiensis*.

Установлена связь между принадлежностью исследованных штаммов *B. thuringiensis* к серотипам *kurstaki* и *thuringiensis* и наличию у них статистически значимых целлюлозолитических свойств. Показано, что штаммы данных серотипов достоверно дискриминировались от остальных изученных групп с расстоянием между центрами групп не менее 13,15.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Trujillo-Cabrera Y., Ponce-Mendoza A., Vásquez-Murieta M.S., Rivera-Orduña F.N., Wang E.T. Diverse cellulolytic bacteria isolated from the high humus, alkaline-saline chinampa soils // *Annals of Microbiology*. 2013. Vol. 63. P. 779–792. DOI: 10.1007/s13213-012-0533-5.
2. Bautista-Cruz A., Aquino-Bolaños T., Hernández-Canseco J., Quiñones-Aguilar E.E. Cellulolytic aerobic bacteria isolated from agricultural and forest soils: an overview // *Biology*. 2024. Vol. 13, no. 2. P. 102. DOI: 10.3390/biology13020102.
3. Liao Y., Wu S., Zhou G., Mei S., Yang Z., Li S., et al. Cellulolytic *Bacillus cereus* produces a variety of short-chain fatty acids and has potential as a probiotic // *Microbiology Spectrum*. 2024. Vol. 12, no. 4. P. e03267–e03223. DOI: 10.1128/spectrum.03267-23.
4. Chen B., Zeng Y., Wang J., Lei M., Gan B., Wan Z., et al. Targeted screening of fiber degrading bacteria with probiotic function in herbivore feces // *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2025. Vol. 17. P. 1473–1497. DOI: 10.1007/s12602-024-10215-5.
5. Vasquez E., Millones C. Isolation and identification of bacteria of genus *Bacillus* from composting urban solid waste and palm forest in Northern Peru // *Microorganisms*. 2023. Vol. 11, no. 3. P. 751. DOI: 10.3390/microorganisms11030751.
6. Zhang J., Luo Z., Li N., Yu Y., Cai M., Zheng L., et al. Cellulose-degrading bacteria improve conversion efficiency in the co-digestion of dairy and chicken manure by black soldier fly larvae // *Journal of Environmental Management*. 2023. Vol. 348. P. 119156. DOI: 10.1016/j.jenvman.2023.119156.
7. Chettri D., Verma A.K. Statistical optimization of cellulase production from *Bacillus* sp. YE16 isolated from yak dung of the Sikkim Himalayas for its application in bioethanol production using pretreated sugarcane bagasse // *Microbiological Research*. 2024. Vol. 281. P. 127623. DOI: 10.1016/j.micres.2024.127623.
8. Шмидт К.Н., Худайгулов Г.Г. Выделение новых штаммов-деструкторов целлюлозы, их роль в снижении антропогенной нагрузки на экосистему // *Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия «Пищевые и биотехнологии»*. 2016. Т. 4. № 4. С. 54–63. DOI: 10.14529/food160406. EDN: XCNEEL.
9. Guo C.-H., Zhao S.-T., Ma Y., Hu J.-J., Han X.-J., Che J., et al. *Bacillus thuringiensis* Cry3Aa fused to a cellulase-binding peptide shows increased toxicity against the longhorned beetle // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2012. Vol. 93. P. 1249–1256. DOI: 10.1007/s00253-011-3523-9.
10. Pinheiro G.L., Correa R.F., Cunha R.S., Cardoso A.M., Chaia C., Clementino M.M., et al. Isolation of aerobic cultivable cellulolytic bacteria from different regions of the gastrointestinal tract of giant land snail *Achatina fulica* // *Frontiers in Microbiology*. 2015. Vol. 6. P. 860. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00860.
11. Сеницын А.П., Черноглазов В.М., Гусаков А.В. Методы изучения и свойства целлюлолитических ферментов / ред. С.Д. Варфоломеев. М.: Изд-во ВИНТИ, 1990. Т. 25. 150 с.
12. Christensen N.L. Fire regimes in southeastern ecosystems // *Fire regimes and ecosystem properties: Proceedings of the conference (Honolulu, 11–15 December 1978)*. Washington: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, 1981. P. 112–136.
13. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms // *Molecular Biology and Evolution*. 2018. Vol. 35, no. 6. P. 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096.
14. Хайлафян А.А. Современные статистические методы медицинских исследований. М.: Ленард, 2014. 320 с.
15. Zwick M.E., Joseph S.J., Didelot X., Chen P.E., Bishop-Lilly K.A., Stewart A.C., et al. Genomic characterization of the *Bacillus cereus* sensu lato species: backdrop to the evolution of *Bacillus anthracis* // *Genome*

Research. 2012. Vol. 22. P. 1512–1524. DOI: 10.1101/gr.134437.111.

16. Hollensteiner J., Poehlein A., Spröer C., Bunk B., Sheppard A.E., Rosentstiel P. et al. Complete Genome sequence of the nematocidal *Bacillus thuringiensis* MYBT18246 // *Standards in Genomic Sciences*. 2017. Vol. 12. P. 48. DOI: 10.1186/s40793-017-0259-x.

17. Wu L., Ma J. The Global Catalogue of Microorganisms (GCM) 10K type strain sequencing project: providing services to taxonomists for standard genome sequencing and annotation // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2019. Vol. 69, no. 4. P. 895–898. DOI: 10.1099/ijsem.0.003276.

18. Shyaula M., Regmi S., Khadka D., Poudel R. C., Dhakal A., Koirala D., et al. Characterization of thermostable

cellulase from *Bacillus licheniformis* PANG L isolated from the Himalayan soil // *International Journal of Microbiology*. 2023. Vol. 3615757. P. 1–12. DOI: 10.1155/2023/3615757.

19. Chavez Lozano M.V., Catelli E., Sciutto G., Prati S., Genorini E., Mazzeo R. A non-invasive diagnostic tool for cellulose acetate films using a portable miniaturized near infrared spectrometer // *Talanta*. 2023. Vol. 255. P. 124223. DOI: 10.1016/j.talanta.2022.124223.

20. Malik W.A., Javed S. Enhancement of cellulase production by cellulolytic bacteria SB125 in submerged fermentation medium and biochemical characterization of the enzyme // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024. Vol. 263. P. 130415. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.130415.

REFERENCES

1. Trujillo-Cabrera Y., Ponce-Mendoza A., Vásquez-Murrieta M.S., Rivera-Orduña F.N., Wang E.T. Diverse cellulolytic bacteria isolated from the high humus, alkaline-saline chinampa soils. *Annals of Microbiology*. 2013;63:779-792. DOI: 10.1007/s13213-012-0533-5.

2. Bautista-Cruz A., Aquino-Bolaños T., Hernández-Canseco J., Quiñones-Aguilar E.E. Cellulolytic aerobic bacteria isolated from agricultural and forest soils: an overview. *Biology*. 2024;13(2):102. DOI: 10.3390/biology13020102.

3. Liao Y., Wu S., Zhou G., Mei S., Yang Z., Li S., et al. Cellulolytic *Bacillus cereus* produces a variety of short-chain fatty acids and has potential as a probiotic. *Microbiology Spectrum*. 2024;12(4):e03267-e03223. DOI: 10.1128/spectrum.03267-23.

4. Chen B., Zeng Y., Wang J., Lei M., Gan B., Wan Z., et al. Targeted screening of fiber degrading bacteria with probiotic function in herbivore feces. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2025. Vol. 17. P. 1473–1497. DOI: 10.1007/s12602-024-10215-5.

5. Vasquez E., Millones C. Isolation and identification of bacteria of genus *Bacillus* from composting urban solid waste and palm forest in Northern Peru. *Microorganisms*. 2023;11(3):751. DOI: 10.3390/microorganisms11030751.

6. Zhang J., Luo Z., Li N., Yu Y., Cai M., Zheng L., et al. Cellulose-degrading bacteria improve conversion efficiency in the co-digestion of dairy and chicken manure by black soldier fly larvae. *Journal of Environmental Management*. 2023;348:119156. DOI: 10.1016/j.jenvman.2023.119156.

7. Chettri D., Verma A.K. Statistical optimization of cellulase production from *Bacillus* sp. YE16 isolated from yak dung of the Sikkim Himalayas for its application in bioethanol production using pretreated sugarcane bagasse. *Microbiological Research*. 2024;281:127623. DOI: 10.1016/j.micres.2024.127623.

8. Shmidt K.N., Khudaigulov G.G. Isolation of new cellulose destruction strains, their role in the decrease of anthropogenic load to the ecosystem. *Bulletin of South Ural State University, Series "Food and Biotechnology"*. 2016;4(4):54-63. (In Russian). DOI: 10.14529/food160406. EDN: XCNELL.

9. Guo C.-H., Zhao S.-T., Ma Y., Hu J.-J., Han X.-J., Che J., et al. *Bacillus thuringiensis* Cry3Aa fused to a cellulase-binding peptide shows increased toxicity against the longhorned beetle. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2012;93:1249-1256. DOI: 10.1007/s00253-011-3523-9.

10. Pinheiro G.L., Correa R.F., Cunha R.S., Cardoso A.M., Chaia C., Clementino M.M., et al. Isolation of aerobic cultivable cellulolytic bacteria from different regions of the gastrointestinal tract of giant land snail *Achatina fulica*. *Frontiers in Microbiology*. 2015;6:860. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00860.

11. Sinitsyn A.P., Chernoglazov V.M., Gusakov A.V. *Methods of study and properties of cellulolytic enzymes*. Moscow: All-Russian Institute of Scientific and Technical Information of the Russian Academy of Sciences; 1990, vol. 25, 150 p. (In Russian).

12. Christensen N.L. Fire regimes in southeastern ecosystems. In: *Fire regimes and ecosystem properties: Proceedings of the conference*. 11–15 December 1978, Honolulu. Washington: U.S. Department of Agriculture, Forest Service; 1981, p. 112-136.

13. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 2018;35(6):1547-1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096.

14. Khalafyan A.A. *Modern statistical methods of medical research*. Moscow: Lenard; 2014, 320 p. (In Russian).

15. Zwick M.E., Joseph S.J., Didelot X., Chen P.E., Bishop-Lilly K.A., Stewart A.C., et al. Genomic characterization of the *Bacillus cereus* sensu lato species: backdrop to the evolution of *Bacillus anthracis*. *Genome Research*. 2012;22:1512-1524. DOI: 10.1101/gr.134437.111.

16. Hollensteiner J., Poehlein A., Spröer C., Bunk B., Sheppard A.E., Rosentstiel P. et al. Complete Genome sequence of the nematocidal *Bacillus thuringiensis* MYBT18246. *Standards in Genomic Sciences*. 2017;12:48. DOI: 10.1186/s40793-017-0259-x.

17. Wu L., Ma J. The Global Catalogue of Microorganisms (GCM) 10K type strain sequencing project: providing services to taxonomists for standard genome sequencing and annotation. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2019;69(4):895-898. DOI: 10.1099/ijsem.0.003276.

18. Shyaula M., Regmi S., Khadka D., Poudel R. C., Dhakal A., Koirala D., et al. Characterization of thermostable cellulase from *Bacillus licheniformis* PANG L isolated from the Himalayan soil. *International Journal of Microbiology*. 2023;3615757:1-12. DOI: 10.1155/2023/3615757.

19. Chavez Lozano M.V., Catelli E., Sciutto G., Prati S., Genorini E., Mazzeo R. A non-invasive diagnostic tool for cellulose acetate films using a portable miniaturized

near infrared spectrometer. *Talanta*. 2023;255:124223. DOI: 10.1016/j.talanta.2022.124223.

20. Malik W.A., Javed S. Enhancement of cellulase production by cellulolytic bacteria SB125 in submerged fermentation medium and biochemical characterization

of the enzyme. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;263:130415. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.130415.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

Крыжко Анастасия Владимировна,
к.с.-х.н., ведущий научный сотрудник,
Научно-исследовательский институт
сельского хозяйства Крыма,
295453, г. Симферополь, ул. Киевская, 150,
Российская Федерация,
nk_lib@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5401-0579>

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 прочитал и одобрил
окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 19.01.2025.
Одобрена после рецензирования 28.03.2025.
Принята к публикации 15.01.2026.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Anastasiia V. Kryzhko,
Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher,
Research Institute of Agriculture of Crimea,
150, Kievskaya St., Simferopol, 295453,
Russian Federation,
nk_lib@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5401-0579>

Contribution of the author

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

Conflict 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 19.01.2025.
Approved after reviewing 28.03.2025.
Accepted for publication 15.01.2026.*



Проектирование состава композитной обогащенной мучной смеси и изучение ее свойств

О.Н. Мусина✉, А.С. Захарова, С.И. Конева

Алтайский государственный технический университет имени И.И. Ползунова,
Барнаул, Российская Федерация

Аннотация. Целью проведенного исследования являлось проектирование состава композитной мучной смеси на основе пшеничной муки, изучение ее физико-химических, биохимических и реологических свойств. С помощью полного трехфакторного эксперимента обоснован состав композитной мучной смеси: псиллиум – 4,5%, перга пчелиная – от 3,2 до 4,2%, порошок клюквы – от 3,5 до 3,7%, мука пшеничная – остальное. При этом критерии оптимальности составляют: число падения по Хагбергу – Пертену, характеризующее активность α -амилазы – 268 с, кислотность – 10 град., водопоглотительная способность – 65%. Композитная мучная смесь характеризуется (в расчете на 100 г) высоким содержанием следующих компонентов: пищевых волокон – 8,1 г, витамина Е – 8,1 мг ток. экв., β -каротина – 4,3 мг, витамина В1 – 0,35 мг, железа – 2,7 мг. Изучены свойства контрольного (пшеничная мука) и опытного (композитная мучная смесь, включающая: псиллиум – 4,5%, пергу пчелиную – 3,8%, порошок клюквы – 3,6%, муку пшеничную – остальное) образцов. Исследования проведены на приборе Mixolab. Установлено, что псиллиум, клюква и пчелиная перга влияют на состояние белково-протеиназного и углеводно-амилазного комплексов мучной смеси, повышают водопоглощение теста на 14,5%, удлиняют время образования теста до 8,1 мин, повышают растворимость глиадиновой и глютеинового фракции, придают тесту высокую растяжимость, снижают температуру клейстеризации крахмала на 1,9 °С, амилолитическую активность на 9% и дают высокую стабильность крахмального клейстера (момент силы 1,300 Н×м). Композитная мучная смесь перспективна в качестве полуфабриката продукции повышенной пищевой ценности.

Ключевые слова: композитная мучная смесь, псиллиум, клюква, перга пчелиная, биохимические свойства, реологические свойства

Финансирование. Работа выполнена в рамках госзадания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 075-03-2024-105, номер темы FZMM-2024-0003, рег. № НИОКТР 124013000666-5).

Для цитирования: Мусина О.Н., Захарова А.С., Конева С.И. Проектирование состава композитной обогащенной мучной смеси и изучение ее свойств // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 82–91. DOI: 10.21285/achb.1019. EDN: КОКОКТ.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Formulation and functional properties of an enriched composite flour blend

Olga N. Musina✉, Alexandra S. Zakharova, Svetlana I. Koneva

Polzunov Altai State Technical University, Barnaul, Russian Federation

Abstract. This study aimed to develop and characterize a composite flour blend based on wheat flour, focusing on its physical, chemical, biochemical, and rheological properties. A full factorial design with three factors was used to determine the optimal formulation, which included 4.5% psyllium, 3.2–4.2% bee bread, 3.5–3.7% cranberry

powder, and the remainder wheat flour. The optimality criteria were as follows: a Hagberg – Perten falling number of 268 s, reflecting α -amylase activity; titratable acidity of 10°; and water absorption of 65%. Per 100 g of product, the composite flour blend contained high levels of dietary fiber (8.1 g), vitamin E (8.1 mg tocopherol equivalents), β -carotene (4.3 mg), vitamin B1 (0.35 mg), and iron (2.7 mg). The properties of the control sample (wheat flour) and the experimental sample (composite flour blend containing 4.5% psyllium, 3.8% bee bread, 3.6% cranberry powder, and the remainder wheat flour) were evaluated using a Mixolab instrument. Psyllium, cranberry, and bee bread modified the protein – proteinase and carbohydrate – amylase complexes of the flour blend, increased dough water absorption by 14.5%, extended dough development time to 8.1 min, and enhanced the solubility of gliadin and glutenin fractions. The composite blend also imparted high dough extensibility, reduced starch gelatinization temperature by 1.9 °C, decreased amylolytic activity by 9%, and produced a starch paste with high stability (torque 1.300 N×m). Overall, the composite flour blend shows strong potential as a semifinished ingredient for foods with enhanced nutritional value.

Keywords: composite flour blend, psyllium, cranberry, bee bread, biochemical properties, rheological properties

Funding. The Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation supported this work (project no. 075-03-2024-105, FZMM-2024-0003, 124013000666-5).

For citation: Musina O.N., Zakharova A.S., Koneva S.I. Formulation and functional properties of an enriched composite flour blend. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):82-91. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1019. EDN: KOKOKT.

ВВЕДЕНИЕ

В Арктической зоне Российской Федерации проживает около 2,6 млн человек, что составляет более половины всех жителей мировой Арктики. По итогам 2023 года Росстат опубликовал данные, согласно которым в регионах Арктики потребление хлебопродуктов довольно велико и составляет 56–132 кг в год на душу населения. Следовательно, композитные смеси на основе пшеничной муки являются хорошим прототипом для разработки обогащенной продукции.

Над созданием обогащенных композитных мучных смесей работают отечественные и зарубежные ученые. Среди них Е.П. Мелешкина, С.Н. Коломиец, Е.В. Шакалова, О.Н. Ворopaева, Н.В. Сокол, А.Б. Абуова, К. Гонсалес-Галеана, А. Кастаньеда-Салазар, Э. Эван-Печ, Л. Чель-Герреро, Р.У. Окроспома-Дуэньяс, К. Таленс, М. Лаго и многие другие [1–6].

В нашем исследовании в качестве источника эссенциальных компонентов для обогащения композитной мучной смеси на основе пшеницы (*Triticum aestivum* L.) выбраны перга пчелиная (*Ambrosia apis*), оболочка семян подорожника (*Plantago psyllium*) и клюква (*Vaccinium oxycoccos*).

Химический состав перги хорошо изучен [7–11]: перга пчелиная (*Ambrosia apis*) – ценный источник биологически активных веществ, в том числе витаминов (ретинол, кальциферол, токоферол, аскорбиновая кислота, витамины группы В, биотин, рутин и др.); перга содержит около 22,5% полноценного по аминокислотному составу белка, 28 минеральных элементов (кальций, фосфор, калий, железо, цинк, марганец и т.д.); среди липидов перги отмечается высокое содержание фосфолипидов и фитостерина (до 1,6%). Для нашего исследования выбрана именно перга, поскольку за счет высокой ферментативной активности она содержит достаточно много молочной кислоты (до 3,2%), что предположительно будет способствовать интенсификации биохимических и коллоидных процессов при созревании теста.

Псиллиум представляет собой оболочку семян подорожника (*Plantago psyllium*), применяется в медицине для улучшения перистальтики желудочно-кишечного тракта, снижения гликемического индекса, минимизации риска сердечно-сосудистых заболеваний, стимуляции роста полезной микрофлоры и др. [12–14]. В нашем исследовании псиллиум выбран в качестве источника пищевых волокон, содержание которых достигает 85%, причем 70% пищевых волокон псиллиума являются растворимыми и при взаимодействии с водой образуют гели [15, 16].

Среди дикорастущих ягод по объемам промышленных заготовок и пищевой ценности лидирует клюква (*Vaccinium oxycoccos*). Клюква произрастает в холодных и умеренных климатических зонах, культивируется на территории Российской Федерации, в том числе в Арктической зоне. Ягодные порошки, полученные путем сублимационной сушки, позволяют сохранить ценные свойства сырья и обеспечить удобство доставки, хранения, дозирования [17, 18]. Химический состав клюквы отличается высоким содержанием витаминов С, В1, В2, В5, В6, РР, К, микро- и макроэлементов, биологически активных веществ (флавоноидов, тритерпеновых кислот и т.д.). Клюква богата органическими кислотами (лимонная, яблочная, бензойная, янтарная и др.), перспективна в качестве обогащающей добавки, красителя и вкусо-ароматического компонента [19, 20].

Следует отметить, что выбранные источники эссенциальных веществ имеют существенно отличающийся от пшеницы химический состав, биохимические и физико-химические свойства и могут существенно отразиться на свойствах обогащенной композитной мучной смеси. Необходимо изучить, как повлияют новые компоненты мучной смеси на биотехнологические процессы, протекающие при смешивании сырья, замесе теста и его созревании.

В связи с вышесказанным нам представляется актуальным проверка гипотезы о том, что включение

¹ Потребление основных продуктов питания населением Российской Федерации // Федеральная служба государственной статистики. Режим доступа: <https://www.rosstat.gov.ru/compendium/document/13278> (дата обращения: 03.03.2026).

в состав мучной пшеничной смеси псиллиума, клюквы и пчелиной перги приведет к выраженным изменениям в биохимических и структурно-механических свойствах смеси. Цель проведенного исследования заключалась в изучении физико-химических, биохимических и реологических свойств спроектированной обогащенной композитной мучной смеси и оценке перспективы ее использования в производстве пищевой продукции.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводились на базе Центра комплексных исследований и экспертной оценки пищевой продукции «АлтайБиоЛакт» Алтайского государственного технического университета имени И.И. Ползунова (г. Барнаул, Россия).

Объектами исследования, соответствующими требованиям действующей нормативной документации, стали:

- композитные мучные смеси (КМС) на основе муки пшеничной, псиллиума, перги пчелиной и клюквы;
- тесто, полученное из муки пшеничной (контрольный образец), и тесто, полученное из спроектированной КМС (опытный образец).

Для получения КМС использована пшеница (*Triticum aestivum* L.) в виде муки пшеничной хлебопекарной первого сорта под торговым наименованием «Алейка» (далее по тексту – мука пшеничная); псиллиум (*Plantago psyllium*) под торговым наименованием «Миофарм» (далее по тексту – псиллиум); перга пчелиная (*Ambrosia aris*) под торговым наименованием «Нектар Алтая», предварительно измельченная до крупности не более 200 мкм (далее по тексту – перга пчелиная); клюква (*Vaccinium oxococcos*) под торговым наименованием Frombio, предварительно сублимированная и измельченная до крупности не более 200 мкм (далее по тексту – порошок клюквы).

Поскольку при составлении композитных мучных смесей большой вклад вносят характеристики основного сырья – муки пшеничной, установлены ее хлебопекарные свойства: цвет – белый с желтоватым оттенком; влажность – $12,3 \pm 0,2\%$; белизна – $48,0 \pm 0,3$ у.е. РЗ-БПЛ; количество клейковины – $30,0 \pm 1,0\%$; качество клейковины – $75,0 \pm 2,0$ у.е.; число падения – 280 ± 9 с; крупность помола: остаток на сите из шелковой ткани № 35 – $0,8 \pm 0,5$, проход через сито из шелковой ткани № 43 – $85,0 \pm 2,0\%$; водопоглотительная способность – $54,0 \pm 1,5\%$; кислотность – $1,7 \pm 0,2$ град. Влажность используемого образца псиллиума составляла $5,0 \pm 0,1\%$, порошка клюквы – $12,0 \pm 0,2\%$, перги – $5,0 \pm 0,1\%$.

Состав КМС, обогащенной апипродуктами (перга пчелиная), спроектирован на основе методов математического моделирования путем реализации полного трехфакторного эксперимента ПФЭ 2³.

Критерии оптимальности: Y_1 – число падения, с; Y_2 – кислотность, град.; Y_3 – водопоглотительная способность, %.

Исследовано совместное влияние трех факторов: x_1 – содержание в КМС перги пчелиной, %; x_2 – содержание в КМС псиллиума, %; x_3 – содержание в КМС порошка клюквы, %. Перга пчелиная, псиллиум и клюква вносились в смесь взамен части муки пшеничной.

Уровни варьирования факторов: перга пчелиная – от 2 до 6%, псиллиум – от 3 до 9%, порошок клюквы – от 1 до 7%. Уровни варьирования факторов основаны на результатах предварительных экспериментов по изучению минорного влияния каждого исследуемого компонента (перга, псиллиум, клюква) на качество КМС на основе муки пшеничной [21, 22].

Выбор компонентов КМС был проведен с учетом их технологической и органолептической совместности. Перга содержит молочную кислоту, клюква – лимонную, яблочную и бензойную. При совместном использовании они создадут буферную систему, что будет способствовать стабилизации белкового каркаса теста, снижению активности амилолитических ферментов, ингибированию роста патогенной микрофлоры. Взаимодействие пищевых волокон псиллиума и пектинов клюквы формирует структуру геля, которая стабилизирует воду в тесте и создаст барьер против миграции влаги в готовом изделии. Пчелиная перга в указанных концентрациях имеет нейтральный вкус и запах. Псиллиум в целом не имеет выраженного вкуса и запаха. Клюква – традиционный компонент пищевой продукции, в том числе изделий на основе пшеничной муки. Выбранные компоненты потенциально способны увеличить сроки годности пищевой продукции. Бензойная кислота, содержащаяся в клюкве, является натуральным консервантом, подавляющим развитие дрожжей и плесеней. Пищевые волокна и органические кислоты псиллиума и клюквы создают неблагоприятную среду для развития микроорганизмов. Антиоксидантные свойства перги (витамин Е, каротиноиды) и клюквы (антоцианы, флавоноиды) замедляют окислительные процессы в готовых изделиях. В научной литературе [12, 13, 17] показано, что включение псиллиума и клюквы в состав пищевой продукции увеличивает сроки годности.

Для обработки результатов полного факторного эксперимента ПФЭ 2³ использовано композиционное ортогональное планирование. Статистический анализ значимости коэффициентов регрессии проведен по критерию Фишера.

Для оценки физико-химических, биохимических и реологических свойств контрольного и опытного образцов КМС проведен ряд исследований.

Число падения, характеризующее активность α -амилазы в КМС, определяли по вязкости водно-мучной суспензии методом Хагберга – Пертена согласно ГОСТ ISO 3093-2016² (идентичен международному стандарту ISO 3093:2009)³.

Кислотность КМС оценивали в соответствии с ГОСТ 27493-87⁴ со следующей модификацией: окончание титрования определяли с помощью pH-метра, поскольку

² ГОСТ ISO 3093-2016. Зерно и продукты его переработки. Определение числа падения методом Хагберга – Пертена. М.: Стандартинформ, 2016. 16 с.

³ ISO 3093:2009. Wheat, rye and their flours, durum wheat and durum wheat semolina – Determination of the falling number according to Hagberg-Perten. Geneva, 2009. 10 p.

⁴ ГОСТ 27493-87. Мука и отруби. Метод определения кислотности по болтушке. М.: Стандартинформ, 2007. 4 с.

исследуемые КМС имели розовый цвет, интенсивность которого пропорциональна количеству вносимого порошка клюквы.

Водопоглотительная способность КМС при постановке полного трехфакторного эксперимента изучалась согласно методике, изложенной в ГОСТ ISO 5530-1-2013⁵ (идентичен международному стандарту ISO 5530-1:1997)⁶.

Характеристика углеводно-амилазного комплекса, обусловленного свойствами крахмала и соотношением в нем фракций амилозы и амилопектина, исследована по ГОСТ ISO 17718-2015⁷ (идентичен международному стандарту ISO 17718:2013)⁸, при этом реологические свойства теста, полученного на основе спроектированной КМС, изучали на приборе Mixolab (Mixolab Chopin Technologies, Франция) с использованием режима для теста из пшеничной муки и протокола Chopin⁺.

Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась в программном обеспечении Microsoft Excel.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате реализации полного факторного эксперимента по изучению совместного влияния перги пчелиной, псиллиума и клюквы на число падения по Хагбергу – Пертену получено уравнение регрессии, адекватно описывающее экспериментальные данные:

$$Y_1 = 269,56 - 5,81 \times x_1 + 19,44 \times x_2 + 10,06 \times x_3 - 3,94 \times x_1 \times x_2 + 4,94 \times x_2 \times x_3 + 4,44 \times x_1 \times x_3 - 4,69 \times x_1 \times x_2 \times x_3. \quad (1)$$

Для кислотности и водопоглотительной способности КМС получены адекватно описывающие экспериментальные данные уравнения регрессии (2) и (3) соответственно:

$$Y_2 = 11,4 + 0,55 \times x_1 - 0,19 \times x_2 + 4,41 \times x_3 + 0,79 \times x_1 \times x_2 - 0,15 \times x_2 \times x_3 - 0,56 \times x_1 \times x_3 + 0,65 \times x_1 \times x_2 \times x_3; \quad (2)$$

$$Y_3 = 53,913 - 0,4625 \times x_1 - 1,663 \times x_3 + 0,338 \times x_2 \times x_3 + 0,213 \times x_1 \times x_3 - 0,288 \times x_1 \times x_2 \times x_3. \quad (3)$$

Совместное решение уравнений (1), (2) и (3) позволило установить оптимальное соотношение компонентов в КМС: псиллиум – 4,5%, перга пчелиная – от 3,2 до 4,2%, порошок клюквы – от 3,5 до 3,7%, мука пшеничная – остальное. При этом критерии оптимальности, характеризующие качество КМС, составляют: число падения – 268 с, кислотность – 10 град., водопоглотительная способность – 65%.

Расчетным путем определены показатели пищевой ценности разработанной КМС (на 100 г): белки – 10 г, жиры – 1,5 г, углеводы – 65 г, энергетическая ценность – 310 ккал (1297 кДж), витамин В2 – 0,1 мг, витамин В9 – 385 мкг, витамин В6 – 0,2 мг, витамин РР – 2 мг, биотин – 5,5 мкг. Оценка свойств спроектированной КМС (расчетным путем) позволила установить, что смесь характеризуется высоким содержанием следующих нутриентов: пищевые волокна – 8,1 г / 100 г (норма по ГОСТ Р 55577-2013⁹ – не менее 6 г / 100 г), витамин Е – 8,1 мг ток. экв. / 100 г (54% от суточной потребности взрослого человека), β-каротин – 4,3 мг / 100 г (86% от суточной потребности). Она также является источником витамина В1 – 0,35 мг / 100 г (23% от суточной потребности) и железа – 2,7 мг / 100 г (27% от суточной потребности). Такие характеристики позволяют отнести спроектированную КМС к перспективным полуфабрикатам для производства продукции повышенной пищевой ценности. Следует отметить, что минеральные вещества, включая железо, а также пищевые волокна достаточно стабильны при термической обработке, тиамин умеренно термочувствителен, а витамин Е и β-каротин – термолабильны. Возможность отнесения готовой продукции на основе КМС к функциональным продуктам согласно ГОСТ Р 55577-2013 требует дополнительной оценки.

Для изучения биохимических и реологических свойств теста была подготовлена согласно области оптимальных значений КМС, включающая псиллиум – 4,5%, пергу пчелиную – 3,8%, порошок клюквы – 3,6%, муку пшеничную – остальное.

Реологические свойства теста (водопоглотительная способность, время образования и консистенция теста, его стабильность и вязкость при замесе) обусловлены состоянием белков и протеолитических ферментов, а также биохимическими и коллоидными изменениями, происходящими при образовании и брожении теста. Процессы клейстеризации и ретроградации крахмала обусловлены как свойствами крахмала, так и амилолитической активностью используемого сырья. Помимо состояния углеводно-амилазного и белково-протеиназного комплексов пшеничной муки на свойства теста оказывает влияние состав и свойства псиллиума, пчелиной перги, клюквы.

Для оценки биохимических и реологических свойств теста на приборе «Миксолаб» измеряется момент силы, Н·м, возникающий на приводе лопастей при замесе в тестомесилке теста из исследуемых образцов КМС и воды. При этом температура в тестомесилке меняется по алгоритму, включенному в программное обеспечение прибора. Результаты исследования свойств теста выражают в числовом и графическом виде.

⁵ ГОСТ ISO 5530-1-2013. Мука пшеничная. Физические характеристики теста. Часть 1. Определение водопоглощения и реологических свойств с применением фаринографа. М.: Стандартинформ, 2014. 15 с.

⁶ ISO 5530-1:1997. Wheat flour – Physical characteristics of doughs. Part 1: Determination of water absorption and rheological properties using a farinograph. Geneva, 1997. 9 p.

⁷ ГОСТ ISO 17718-2015. Зерно и мука из мягкой пшеницы. Определение реологических свойств теста в зависимости от условий замеса и повышения температуры. М.: Стандартинформ, 2016. 32 с.

⁸ ISO 17718:2013. Wholemeal and flour from wheat (*Triticum aestivum* L.) – Determination of rheological behavior as a function of mixing and temperature increase. Geneva, 2013. 13 p.

⁹ ГОСТ Р 55577-2013. Продукты пищевые функциональные. Информация об отличительных признаках и эффективности. М.: Стандартинформ, 2014. 23 с.

Миксолабограмма, иллюстрирующая изменение момента силы в процессе замеса при различных температурных режимах, фиксирует несколько критических точек (C1, C2, C3, C4, C5), соответствующих фазам состояния компонентов теста (рис. 1, 2). Измеряемый крутящий момент в этих точках характеризует протекающие в образцах биохимические процессы.

Данные миксолабограмм (см. рис. 1, 2) подтверждают гипотезу о том, что включение в состав пшеничной КМС псиллиума, клюквы и пчелиной перги приводит к выраженным различиям в параметрах реологического профиля и оцениваемых прибором «Миксолаб» индексов, что свидетельствует о разной скорости биохимических и коллоидных процессов образования и формирования теста в контрольном и опытном образцах.

Основные параметры, полученные для образцов по протоколу Chopin+, представлены в табл. 1, 2.

По сравнению с контрольным образцом в опытном образце теста отмечен рост водопоглощения до 67,2%. Выявленная зависимость связана с тем, что псиллиум и клюква по сравнению с пшеничной мукой содержат существенно большее количество пищевых волокон (целлюлоза, гемицеллюлозы), обладающих способностью связывать и удерживать большее количество воды, чем белки (главным образом глиадин и глютен) и пентозаны пшеницы. Богатая пектиновыми веществами клюква по структуре представляет собой коллоидное капиллярно-пористое тело с тупиковыми капиллярами, что также повышает водопоглощение.

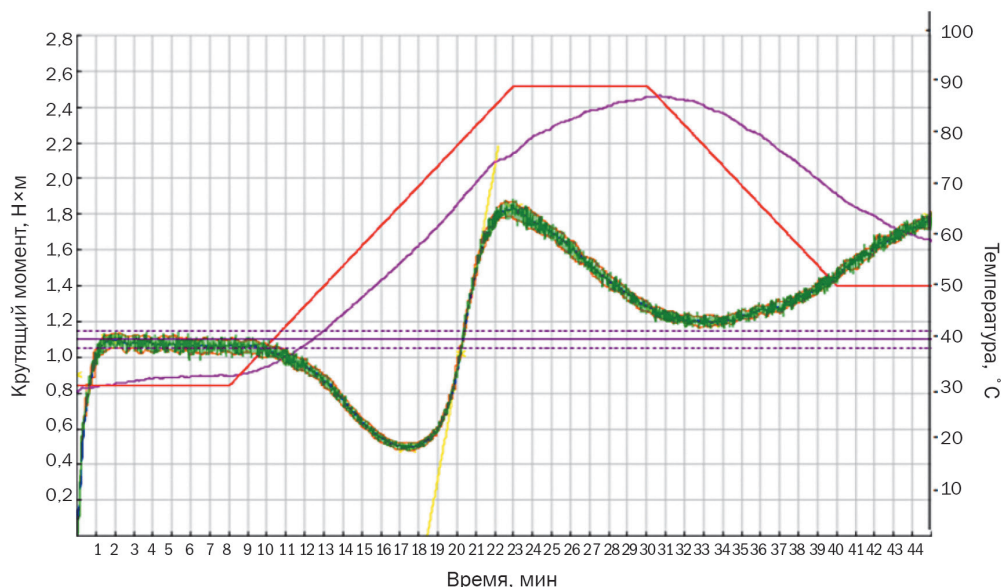


Рис. 1. Миксолабограмма теста из пшеничной муки (контрольный образец)

Fig. 1. Mixolabogram of the dough made from wheat flour (control sample)

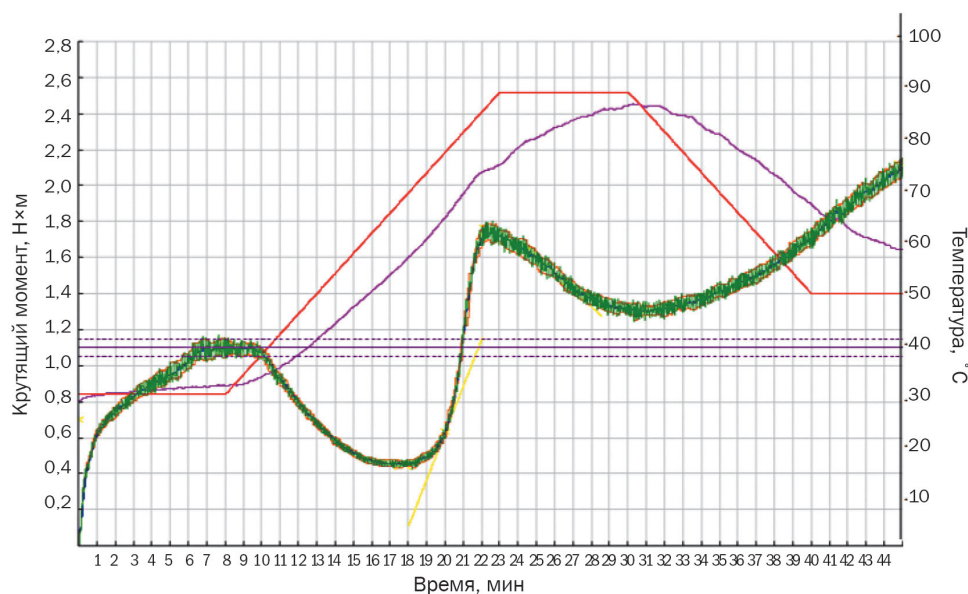


Рис. 2. Миксолабограмма теста из спроектированной композитной мучной смеси (опытный образец)

Fig. 2. Mixolabogram of the dough made from the designed composite flour (prototype)

Таблица 1. Данные миксолабограмм

Table 1. Mixolabogram data

Образец	Водопоглощение, %	Время образования теста, мин	Стабильность теста, мин
Контрольный	58,7	1,75	8,32
Опытный	67,2	8,10	6,55

Таблица 2. Данные миксолабограмм в критических точках

Table 2. Mixolabogram data at critical points

Образец	Крутящий момент $\vec{M}$, Н×м, и температура теста T , °С, в критических точках миксолабограммы									
	C1		C2		C3		C4		C5	
	$\vec{M}$, Н×м	T , °С	$\vec{M}$, Н×м	T , °С	$\vec{M}$, Н×м	T , °С	$\vec{M}$, Н×м	T , °С	$\vec{M}$, Н×м	T , °С
Контрольный	1,100	30,1	0,497	56,0	1,830	76,5	1,195	85,3	1,777	59,0
Опытный	1,108	31,6	0,452	56,1	1,750	74,6	1,300	87,3	2,107	58,8

Одновременно отмечено увеличение времени образования теста с 1,75 мин в контрольном образце до 8,10 мин в спроектированной КМС. Замес теста сопровождается сложным циклом биохимических и коллоидных процессов, влияющих на его реологические свойства, обусловленные изменениями белковых веществ и полисахаридов на уровне молекул. По всей видимости, наличие органических кислот (молочной, лимонной, яблочной и др.) в составе клюквы и пчелиной перги способствует замедлению набухания белков, что увеличивает длительность замеса и время достижения необходимой консистенции теста.

Показатель стабильности теста опытного образца, характеризующий время сохранения консистенции, снижался до 6,55 мин, причем период разжижения теста начинался уже до контролируемого повышения температуры в тестомесилке прибора «Миксолаб», что свидетельствует о низкой устойчивости полуфабриката. По-видимому, наличие в клюкве пектинов, являющихся лиофильными коллоидами, способными растворяться в условиях кислой среды, разжижает тесто и придает ему повышенную вязкость (см. табл. 1).

В течение фазы 2 эксперимента температура в тестомесилке прибора плавно повышается с 30 до 60 °С, при этом происходит снижение значения момента силы до минимального (точка C2), что сопровождается разжижением теста вследствие изменения свойств белков при термическом воздействии. В фазе разжижения проб теста из пшеничной муки и спроектированной КМС отмечено незначительное снижение минимального значения момента силы (0,492 Н×м и 0,452 Н×м соответственно). Внесение клюквы, содержащей значительное количество органических кислот (лимонной, яблочной и др.), а также перги, содержащей до 3,2% молочной кислоты, приводит к изменению растворимости белков. Глиадин и глютен в условиях механического воздействия, повышенной температуры и кислотности неограниченно набухают, происходит разрушение внутри- и межмолекулярных связей в белковых структурах, что снижает пороговое значение энергии, необходимой для деградации клейковинного каркаса теста, сопровождающегося расслаблением структуры теста.

После достижения минимума в точке C2 значение момента силы увеличилось и достигло максимального в точке C3 (фаза 3). На этом этапе под воздействием

высокой температуры, плавно повышаемой от 60 до 90 °С, происходит разрушение гранул крахмала. В исследуемом интервале температур активность амилолитических ферментов максимальна, идет активный амилолиз крахмала с образованием низкомолекулярных декстринов, разжижающих тесто и снижающих вязкость полуфабрикатов.

Анализ миксолабограмм в фазе 3, имитирующей изменения, происходящие в тесте на этапе выпечки, демонстрирует снижение момента силы и температуры клейстеризации крахмала в конце прогрева опытного образца (точка C3). Значение моменты силы в конце прогрева было на 4,4% ниже, чем у контрольного образца, и составляло 1,750 Н×м, при этом температура клейстеризации крахмала по сравнению с контрольным образцом снизилась на 1,9 °С и составила 74,6 °С (см. табл. 2).

Фаза 4, характеризующая стабильность крахмального клейстера при нагреве, показывает большее значение момента силы в опытном образце (1,300 Н×м) по сравнению с контрольным (1,195 Н×м), что свидетельствует о меньшей активности амилолитических ферментов в спроектированной КМС.

В фазе 5 температура снижается с 90 до 50 °С, что позволяет охарактеризовать углеводно-амилазный комплекс образцов и спрогнозировать изменения структурно-механических свойств изделий при хранении, связанные с ретроградацией крахмала. В проведенной серии исследований установлено, что значение момента силы у опытного образца на 15,7% выше, чем у контрольного, что позволяет ожидать большую способность крахмала спроектированной КМС к ретроградации.

В табл. 3 представлены данные о скоростях, характеризующих биохимические реакции при проведении исследования образцов на приборе «Миксолаб» по протоколу Chopin+.

Согласно данным табл. 3 установлено, что скорость разжижения теста у контрольного и опытного образцов была практически одинаковой, скорость клейстеризации крахмала заметно ниже у опытного образца, скорость амилолиза у контрольного образца выше, чем у опытного, что косвенно свидетельствует о более низкой активности амилолитических ферментов в спроектированной КМС в присутствии кислореагирующих веществ в составе теста.

Таблица 3. Расчетные данные скоростей биохимических реакций, Н×м/мин

Table 3. Calculated data of the biochemical reaction rates, Н×м/мин

Образец	Скорость разжижения теста	Скорость клейстеризации крахмала	Скорость амилализа
Контрольный	-0,108	0,582	-0,078
Опытный	-0,104	0,260	-0,096

Для более наглядного описания реологического профиля образцов также проведена графическая интерпретация результатов с применением функции Mixolab Profiler. Для построения радиальной диаграммы (рис. 3) использовали интеграционные индексы профайлера исследуемых образцов (табл. 4).



Рис. 3. Радиальная диаграмма

Fig. 3. Radial diagram

Таблица 4. Индексы Mixolab Profiler

Table 4. Mixolab Profiler indexes

Индекс	Образец	
	контрольный	опытный
Водопоглотительная способность	5	9
Замес	5	5
Глютен+	6	2
Вязкость	6	5
Амилолитическая активность	2	2
Ретроградация крахмала	3	5

Индекс «Водопоглотительная способность» в опытном образце теста на 40% выше, чем в контрольном, что характеризует высокий адсорбционный потенциал спроектированной КМС и свидетельствует о потребности в большем количестве воды для получения теста нужной консистенции. Индекс «Замес», описывающий стабильность теста и время его образования, одинаков для исследуемых образцов. Индекс «Глютен+», описывающий поведение клейковины при нагреве и сохранность консистенции теста, существенно ниже у опытного образца, что характеризует высокую растяжимость такого теста. Низкий показатель данного индекса может быть целевым при использовании КМС для производства галет, тесто для которых должно обладать достаточной растяжимостью. Индекс «Вязкость», характеризующий изменение вязкости теста при нагреве и зависящий от качества крахмала, у

опытного образца на 17% ниже, чем у контрольного, что свидетельствует о менее глубоком разрушении гранул крахмала, разжижении клейстера и менее высокой вязкости теста опытного образца. Индекс «Амилолитическая активность», характеризующий податливость крахмала действию амилаз, говорит об одинаково высокой активности амилолитических ферментов образцов. Индекс «Ретроградация крахмала» характеризует степень повышения плотности крахмального геля, вызывающего его синерезис, сопровождающийся уменьшением объема крахмальных зерен и выделением свободной влаги. Ретроградация крахмала является основным фактором черствения мучных изделий с мягким эластичным мякишем. Высокий индекс ретроградации опытного образца позволяет рекомендовать использовать спроектированную КМС для производства галет как изделий пониженной влажности, процесс черствения в которых практически не протекает.

С учетом выявленных особенностей свойств КМС (низкая температура клейстеризации крахмала, высокая вязкость крахмального клейстера, высокая водопоглотительная способность, высокая растяжимость теста) к рассмотрению могут быть рекомендованы и другие варианты использования смеси (помимо хлебобулочных или мучных кондитерских изделий), позволяющие максимально сохранить термолабильные микронутриенты (витамин Е, В1 и β-каротин). Технологии таких продуктов должны не требовать высокотемпературной обработки, иметь короткое время тепловой обработки либо вообще не предполагать дополнительной термообработки. Варианты таких продуктов: кисели (заваривание КМС с последующим охлаждением – псиллиум в составе обеспечивает хорошее загустение); суфле (КМС с фруктовым пюре и яичным белком); коктейли и смузи (смешивание КМС с фруктами, ягодами, молоком/йогуртом); хлебцы (КМС с водой/соком, формирование изделий и сушка при температуре 40–45 °С в дегидраторе или выпечка при температуре 60–65 °С).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенной работы на основе методов математического моделирования путем реализации полного трехфакторного эксперимента спроектирован состав КМС (пшеничная мука, псиллиум, клюква), обогащенной апипродуктами (перга пчелиная): псиллиум – 4,5%, перга пчелиная – от 3,2 до 4,2%, порошок клюквы – от 3,5 до 3,7%, мука пшеничная – остальное. При этом критерии оптимальности, характеризующие качество КМС, составляют: число падения по Хагбергу – Пертену, характеризующее активность α-амилазы – 268 с, кислотность – 10 град., водопоглотительная способность – 65%.

Расчетный химический состав разработанной КМС свидетельствует о ее высокой пищевой ценности (пищевые волокна – 8,1 г / 100 г смеси, витамин Е – 8,1 мг ток. экв., β-каротин – 4,3 мг, витамин В1 – 0,35 мг, железо – 2,7 мг).

Следует отметить, что окончательное содержание термолабильных веществ (витамин Е, В1, β -каротин) в готовой пищевой продукции на основе КМС может отличаться и требует дополнительной оценки.

Изучены физико-химические, биохимические и реологические свойства контрольного (пшеничная мука) и опытного (КМС, включающая псиллиум – 4,5%, пергу пчелиную – 3,8%, порошок клюквы – 3,6%, муку пшеничную – остальное) образцов. Характеристика углеводно-амилазного и белково-протеиназного комплексов образцов изучена на приборе Mixolab по протоколу Chopin+.

Миксолобограммы подтвердили гипотезу о том, что включение в состав пшеничной КМС псиллиума, клюквы и пчелиной перги приводит к выраженным различиям в биохимических и структурно-механических свойствах образцов. Установлено, что значение момента силы у опытного образца на 15,7% выше, чем у контрольного, что позволяет ожидать большую способность крахмала спроектированной КМС к ретроградации.

Скорость разжижения теста у контрольного и опытного образцов практически одинакова, скорость клейстеризации крахмала заметно ниже у опытного образца; скорость амилолиза у контрольного образца выше, чем у опытного, что свидетельствует о высокой активности амилолитических ферментов. С применением функции Mixolab Profiler установлено, что индекс «Глютен+», существенно ниже у опытного образца, что характеризует высокую растяжимость такого теста.

С учетом особенностей состава и свойств КМС она перспективна в качестве полуфабриката для производства продукции повышенной пищевой ценности и хранимостепособности – например, галет, в том числе для населения Арктической зоны России. Могут быть рассмотрены другие варианты использования КМС, позволяющие максимально сохранить термолабильные микронутриенты. Технологии таких продуктов должны не требовать высокотемпературной термообработки и/или иметь короткое время тепловой обработки.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Жемухов Р.Ш., Волошин Ю.Н., Жемухова М.М. Проектирование рецептур мучных многокомпонентных изделий функционального назначения // Качество. Инновации. Образование. 2020. N 5. С. 103–108. DOI: 10.31145/1999-513x-2020-5-103-108. EDN: GPCSHG.
2. Мелешкина Е.П., Коломиец С.Н., Коваль А.И., Кириллова Е.В., Жильцова Н.С., Бундина О.И. [и др.]. Получение трехкомпонентной муки, обогащенной горохом и льном // Пищевая промышленность. 2024. N 9. С. 53–55. DOI: 10.52653/PPI.2024.9.9.010. EDN: NPWWES.
3. González-Galeana C., Castañeda-Salazar A., Del Cortez-Trejo M., Gaytán-Martínez M., Campos-Vega R., Mendoza S. Structural and functional properties of a high moisture extruded mixture of pea proteins (*Pisum sativum*), amaranth flour (*Amaranthus hypochondriacus*), and oat flour (*Avena sativa*) // Food Chemistry. 2025. Vol. 463. P. 141042. DOI: 10.1016/j.foodchem.2024.141042.
4. Euan-Pech E., Guerrero L.C., Wilbert R.C., Tintoré S.G., Betancur-Ancona D. Cassava (*Manihot esculenta*) and maize (*Zea mays* L.) flour mixtures for the development of healthy snacks // International Journal of Gastronomy and Food Science. 2024. Vol. 37. P. 100985. DOI: 10.1016/j.ijgfs.2024.100985.
5. Jamanca-Gonzales N.C., Ocrosopoma-Dueñas R.W., Eguilas-Causi Y.M., Padilla-Fabian R.A., Silva-Paz R.J. Techno-functional properties and rheological behavior of quinoa, kiwicha, wheat flours and their mixtures // Molecules. 2024. Vol. 29, no. 6. P. 1374. DOI: 10.3390/molecules29061374.
6. Talens C., Lago M., Simó-Boyle L., Odriozola-Serrano I., Ibargüen M. Desirability-based optimization of bakery products containing pea, hemp and insect flours using mixture design methodology // LWT – Food Science and Technology. 2022. Vol. 168. P. 113878. DOI: 10.1016/j.lwt.2022.113878.
7. Mărgăoan R., Stranț M., Varadi A., Topal E., Yücel B., Cornea-Cipcigan M., et al. Bee collected pollen and beebread: bioactive constituents and health benefits // Antioxidants. 2019. Vol. 8, no. 12. P. 568. DOI: 10.3390/antiox8120568.
8. Végh R., Csóka M., Stefanovits-Bányai E., Juhász R., Sipos L. Biscuits enriched with monofloral bee pollens: nutritional properties, techno-functional parameters, sensory profile, and consumer preference // Foods. 2023. Vol. 12, no. 1. P. 18. DOI: 10.3390/foods12010018.
9. Kaur J., Rasane P., Kumar V., Nanda V., Bhadariya V., Kaur S., et al. Exploring the health benefits of bee pollen and its viability as a functional food ingredient // Reviews in Agricultural Science. 2024. Vol. 12. P. 65–78. DOI: 10.7831/ras.12.0_65.
10. Ertosun S., Aylanc V., Falcão S.I., Vilas-Boas M. Thermal stability and antioxidant activity of bioactive compounds in bread enriched with bee pollen and bee bread // Antioxidants. 2023. Vol. 12, no. 9. P. 1691. DOI: 10.3390/antiox12091691.
11. Baky M.H., Abouelela M.B., Wang K., Farag M.A. Bee pollen and bread as a super-food: a comparative review of their metabolome composition and quality assessment in the context of best recovery conditions // Molecules. 2023. Vol. 28, no. 2. P. 715. DOI: 10.3390/molecules28020715.
12. Belorio M., Gómez M. Psyllium: a useful functional ingredient in food systems // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2022. Vol. 62, no. 2. P. 527–538. DOI: 10.1080/10408398.2020.1822276.
13. Chen C., Shang C., Xin L., Xiang M., Wang Y., Shen Z., et al. Beneficial effects of psyllium on the prevention and treatment of cardiometabolic diseases // Food & Function. 2022. Vol. 13, no. 14. P. 7473–7486. DOI: 10.1039/d2fo00560c.
14. Jalanka J., Major G., Murray K., Singh G., Nowak A., Kurtz C., et al. The effect of psyllium husk on intestinal microbiota in constipated patients and healthy controls // International Journal of Molecular Sciences. 2019. Vol. 20, no. 2. P. 433. DOI: 10.3390/ijms20020433.
15. Franco E.A.N., Sanches-Silva A., Ribeiro-Santos R., de Melo N.R. Psyllium (*Plantago ovata* Forsk): from evidence of health benefits to its food application // Trends of Food Science & Technology. 2020. Vol. 96. P. 166–175. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.12.006.
16. Hilal B., Ilkay S. Effect of psyllium and cellulose fiber addition on the structure and the starch digestibility of bread and crackers // Food Structure. 2024. Vol. 35. P. 100302. DOI: 10.1016/j.foostr.2022.100302.
17. Wei F., Wang H., Li X., Cao J., Zhang X. Preparation of Astragalus membranaceus-cranberry biscuits and the evaluation of physicochemical properties and antioxidant activity //

International Journal of Food Science and Technology. 2024. Vol. 59, no. 5. P. 3134-3141. DOI: 10.1111/ijfs.17057.

18. Pateiro M., Vargas-Ramella M., Franco D., da Cruz A.G., Zengin G., Kumar M., et al. The role of emerging technologies in the dehydration of berries: quality, bioactive compounds, and shelf life // *Food Chemistry: X*. 2022. Vol. 16. P. 100465. DOI: 10.1016/j.fochx.2022.100465.

19. Бисчокова Ф.А., Штымова А.Х. Использование ягодных полуфабрикатов дикорастущих растений в производстве хлебобулочных изделий // *Известия Кабардино-Балкарского государственного аграрного университета им. В.М. Кокова*. 2021. N 1. С. 44–49. EDN: HDZGKI.

20. Taibi A., Lofft Z., Laytouni-Imbriaco B., Comelli E.M. The role of intestinal microbiota and microRNAs in the anti-inflammatory effects of cranberry: from pre-clinical to clinical studies // *Frontiers in Nutrition*. 2023. Vol. 10. P. 1092342. DOI: 10.3389/fnut.2023.1092342.

21. Захарова А.С., Конева С.И. Изучение качественных характеристик многокомпонентных смесей для галет // *Ползуновский вестник*. 2024. N 2. С. 148–154. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2024.02.019. EDN: KQYSIK.

22. Конева С.И., Захарова А.С. Проектирование состава многокомпонентных смесей для обогащенных галет // *Ползуновский вестник*. 2024. N 3. С. 23–28. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2024.03.003. EDN: WUXTVB.

REFERENCES

1. Zhemukhov R.SH., Voloshin YU.N., Zhemukhova M.M. Design of recipes for flour multicomponent functional products. *Kachestvo. Innovatsii. Obrazovanie*. 2020;5:103-108. (In Russian). DOI: 10.31145/1999-513x-2020-5-103-108. EDN: GPCSHG.

2. Meleshkina E.P., Kolomiets S.N., Koval A.I., Kirillova E.V., Zhiltsova N.S., Bundina O.I., et al. Preparation of three-component flour enriched with peas and flax. *Food Industry*. 2024;9:53-55. (In Russian). DOI: 10.52653/PPI.2024.9.9.010. EDN: NPWWES.

3. González-Galeana C., Castañeda-Salazar A., Del Cortez-Trejo M., Gaytán-Martínez M., Campos-Vega R., Mendoza S. Structural and functional properties of a high moisture extruded mixture of pea proteins (*Pisum sativum*), amaranth flour (*Amaranthus hypochondriacus*), and oat flour (*Avena sativa*). *Food Chemistry*. 2025;463:141042. DOI: 10.1016/j.foodchem.2024.141042.

4. Euan-Pech E., Guerrero L.C., Wilbert R.C., Tintoré S.G., Betancur-Ancona D. Cassava (*Manihot esculenta*) and maize (*Zea mays* L.) flour mixtures for the development of healthy snacks. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 2024;37:100985. DOI: 10.1016/j.ijgfs.2024.100985.

5. Jamanca-Gonzales N.C., Ocrospoma-Dueñas R.W., Eguilas-Causi Y.M., Padilla-Fabian R.A., Silva-Paz R.J. Techno-functional properties and rheological behavior of quinoa, kiwicha, wheat flours and their mixtures. *Molecules*. 2024;29(6):1374. DOI: 10.3390/molecules29061374.

6. Talens C., Lago M., Simó-Boyle L., Odriozola-Serrano I., Ibargüen M. Desirability-based optimization of bakery products containing pea, hemp and insect flours using mixture design methodology. *LWT – Food Science and Technology*. 2022;168:113878. DOI: 10.1016/j.lwt.2022.113878.

7. Mărgăoan R., Stranț M., Varadi A., Topal E., Yücel B., Cornea-Cipcigan M., et al. Bee collected pollen and beebread: bioactive constituents and health benefits. *Antioxidants*. 2019;8(12):568. DOI: 10.3390/antiox8120568.

8. Végh R., Csóka M., Stefanovits-Bányai E., Juhász R., Sipos L. Biscuits enriched with monofloral bee pollens: nutritional properties, techno-functional parameters, sensory profile, and consumer preference. *Foods*. 2023;12(1):18. DOI: 10.3390/foods12010018.

9. Kaur J., Rasane P., Kumar V., Nanda V., Bhadariya V., Kaur S., et al. Exploring the health benefits of bee pollen and its viability as a functional food ingredient. *Reviews in Agricultural Science*. 2024;12:65-78. DOI: 10.7831/ras.12.0_65.

10. Ertosun S., Aylanc V., Falcão S.I., Vilas-Boas M. Thermal stability and antioxidant activity of bioactive

compounds in bread enriched with bee pollen and bee bread. *Antioxidants*. 2023;12(9):1691. DOI: 10.3390/antiox12091691.

11. Baky M.H., Abouelela M.B., Wang K., Farag M.A. Bee pollen and bread as a super-food: a comparative review of their metabolome composition and quality assessment in the context of best recovery conditions. *Molecules*. 2023;28(2):715. DOI: 10.3390/molecules28020715.

12. Belorio M., Gómez M. Psyllium: a useful functional ingredient in food systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022;62(2):527-538. DOI: 10.1080/10408398.2020.1822276.

13. Chen C., Shang C., Xin L., Xiang M., Wang Y., Shen Z., et al. Beneficial effects of psyllium on the prevention and treatment of cardiometabolic diseases. *Food & Function*. 2022;13(14):7473-7486. DOI: 10.1039/d2fo00560c.

14. Jalanka J., Major G., Murray K., Singh G., Nowak A., Kurtz C., et al. The effect of psyllium husk on intestinal microbiota in constipated patients and healthy controls. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(2):433. DOI: 10.3390/ijms20020433.

15. Franco E.A.N., Sanches-Silva A., Ribeiro-Santos R., de Melo N.R. Psyllium (*Plantago ovata* Forsk): from evidence of health benefits to its food application. *Trends of Food Science & Technology*. 2020;96:166-175. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.12.006.

16. Hilal B., Ilkay S. Effect of psyllium and cellulose fiber addition on the structure and the starch digestibility of bread and crackers. *Food Structure*. 2024;35:100302. DOI: 10.1016/j.foostr.2022.100302.

17. Wei F., Wang H., Li X., Cao J., Zhang X. Preparation of Astragalus membranaceus-cranberry biscuits and the evaluation of physicochemical properties and antioxidant activity. *International Journal of Food Science and Technology*. 2024;59(5):3134-3141. DOI: 10.1111/ijfs.17057.

18. Pateiro M., Vargas-Ramella M., Franco D., da Cruz A.G., Zengin G., Kumar M., et al. The role of emerging technologies in the dehydration of berries: quality, bioactive compounds, and shelf life. *Food Chemistry: X*. 2022;16:100465. DOI: 10.1016/j.fochx.2022.100465.

19. Bischookova F.A., Schtimova A.H. The use of berry semi-finished products of wild plants in the production of bakery products. *Izvestiya Kabardino-Balkarian State Agrarian University named after V. M. Kokov*. 2021;1:44-49. (In Russian). EDN: HDZGKI.

20. Taibi A., Lofft Z., Laytouni-Imbriaco B., Comelli E.M. The role of intestinal microbiota and microRNAs in the anti-inflammatory effects of cranberry: from pre-clinical to

clinical studies. *Frontiers in Nutrition*. 2023;10:1092342. DOI: 10.3389/fnut.2023.1092342.

21. Zakharova A.S., Koneva S.I. Study of qualitative characteristics multicomponent mixtures for biscuits. *Polzunovskiy Vestnik*. 2024;2:148-154. (In Russian).

DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2024.02.019. EDN: KQYSIK.

22. Koneva S.I., Zakharova A.S. Designing the composition of multicomponent mixtures for enriched biscuits. *Polzunovskiy Vestnik*. 2024;3:23-28. (In Russian). DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2024.03.003. EDN: WUXTVB.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Мусина Ольга Николаевна,

д.т.н., доцент, главный научный сотрудник,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 46,
Российская Федерация,
✉ musinaolga@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4938-8136>

Захарова Александра Сергеевна,

к.т.н., доцент, старший научный сотрудник,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 46,
Российская Федерация,
zakharovatz@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7571-0950>

Конева Светлана Ивановна,

к.т.н., доцент, старший научный сотрудник,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 46,
Российская Федерация,
skoneva22@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6727-5979>

Вклад авторов

О.Н. Мусина – получение финансирования, разработка концепции, разработка методологии, валидация результатов, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.
А.С. Захарова – проведение исследования, визуализация, валидация результатов, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.
С.И. Конева – проведение исследования, визуализация, валидация результатов, 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 19.10.2025.
Одобрена после рецензирования 24.01.2026.
Принята к публикации 13.02.2026.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Olga N. Musina,

Dr. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Chief Researcher,
Polzunov Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
✉ musinaolga@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4938-8136>

Alexandra S. Zakharova,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Senior Researcher,
Polzunov Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
zakharovatz@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7571-0950>

Svetlana I. Koneva,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Senior Researcher,
Polzunov Altai State Technical University,
46, Lenin Ave., Barnaul, 656038,
Russian Federation,
skoneva22@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6727-5979>

Contribution of the authors

Olga N. Musina – funding acquisition, conceptualization, methodology, validation, writing – original draft, editing.
Alexandra S. Zakharova – investigation, visualization, validation, writing – original draft, editing.
Svetlana I. Koneva – investigation, visualization, validation, 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 19.10.2025.
Approved after reviewing 24.01.2026.
Accepted for publication 13.02.2026.



Влияние способа получения и депонирования гемостатического препарата на физико-химические свойства биополимерных микрочастиц

А.В. Позднякова*✉, А.В. Муруева****, А.М. Шершнева***,
А.В. Шабанов****, Е.И. Шишачкая*****

*Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнёва,
Красноярск, Российская Федерация

**Институт биофизики СО РАН – обособленное подразделение
Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр СО РАН»,
Красноярск, Российская Федерация

***Сибирский федеральный университет, Красноярск, Российская Федерация

****Институт физики имени Л.В. Киренского СО РАН – обособленное подразделение
Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр СО РАН»,
Красноярск, Российская Федерация

Аннотация. Разработка эффективных гемостатических средств местного действия является одной из приоритетных задач современной регенеративной медицины. Особенно важным остается понимание того, как параметры получения влияют на структуру и функциональную активность биополимерного материала. Целью проведенного исследования являлось изучение физико-химических характеристик микрочастиц из биodeградируемого полимера поли(3-гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерата) в зависимости от способа получения и депонирования гемостатического препарата этамзилата. Были изучены морфология микрочастиц, размер, электрокинетический потенциал, а также высвобождение препарата с оценкой моделей кинетики. Результаты исследования показали, что способ получения существенно влияет на размер микрочастиц (85 и 18 мкм), электрокинетический потенциал (-27 и -19 мВ) и высвобождение лекарственного средства (около 80 и около 60%) для эмульсионного метода и для распылительного высушивания соответственно. Показано, что депонирование лекарственного препарата не оказало существенного влияния на средний диаметр микрочастиц (76–85 и 15–18 мкм), а также электрокинетический потенциал (около -26,5...-27,5 и -15,0...-22,3 мВ) для эмульсионного метода и для распылительного высушивания соответственно. Кинетика высвобождения препарата для микрочастиц, полученных эмульсионным методом и методом распылительного высушивания, соответствовала модели первого порядка со значением коэффициентов детерминации 0,7525 и 0,8389 соответственно. По результатам исследований этамзилат может быть включен в состав микрочастиц поли(3-гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерата) как эмульсионным методом, так и методом распылительного высушивания с удовлетворительными показателями эффективности депонирования, высвобождения препарата и стабильности в модельной среде.

Ключевые слова: поли(3-гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерат), микрочастицы, этамзилат, системы с пролонгированным высвобождением препарата

Благодарности. Исследование выполнено на оборудовании Сибирского федерального университета и Института физики им. Л.В. Киренского СО РАН (г. Красноярск, Россия).

Для цитирования: Позднякова А.В., Муруева А.В., Шершнева А.М., Шабанов А.В., Шишачкая Е.И. Влияние способа получения и депонирования гемостатического препарата на физико-химические свойства биополимерных микрочастиц // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 92–100. DOI: 10.21285/achb.1020. EDN: MYEJTH.

Impact of hemostatic agent preparation and deposition methods on the physicochemical properties of biopolymer microparticles

Alexandra V. Pozdniakova*✉, Anastasiya V. Murueva****, Anna M. Shershneva***,
Alexander V. Shabanov****, Ekaterina I. Shishatskaya*****

*Reshetnev Siberian State University of Science and Technology, Krasnoyarsk, Russian Federation

**Institute of Biophysics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences", Krasnoyarsk, Russian Federation

***Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

****L.V. Kirensky Institute of Physics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences", Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. The development of effective topical hemostatic agents is a key priority of contemporary regenerative medicine. In this context, considerable attention is directed toward elucidating the relationship between preparation parameters and the resulting structure and functional activity of biopolymer materials. In this work, our aim was to study the physicochemical characteristics of microparticles of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) biodegradable polymer depending on the method of preparation and deposition of the etamsylate hemostatic agent. Microparticle morphology, size, zeta potential, and agent release were studied with the evaluation of kinetic models. We found that the preparation method has a significant effect of the size of microparticles (85 and 18 μm), zeta potential (-27 and -19 mV), and agent release (~80 and ~60%) for the emulsion and spray drying methods, respectively. The deposition of the agent was shown to have no significant effect on the average microparticle diameter (76–85 and 15–18 μm), as well as zeta potential (from about -26.5 to -27.5 and from -15.0 to -22.3 mV) for the emulsion and spray drying methods, respectively. The release kinetics of the agent for microparticles prepared by the emulsion and spray drying methods corresponded to the first-order model with a determination coefficient of 0.7525 and 0.8389, respectively. The results indicate that etamsylate can be successfully incorporated into poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) microparticles using either the emulsion method or spray drying with satisfactory deposition efficiency, agent release characteristics, and stability in the model medium.

Keywords: poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), microparticles, etamsylate, extended-release systems

Acknowledgements: The authors thank the Siberian Federal University and L.V. Kirensky Institute of Physics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences for providing the equipment.

For citation: Pozdniakova A.V., Murueva A.V., Shershneva A.M., Shabanov A.V., Shishatskaya E.I. Impact of hemostatic agent preparation and deposition methods on the physicochemical properties of biopolymer microparticles. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):92-100. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1020. EDN: MYEJTH.

ВВЕДЕНИЕ

В последние несколько десятилетий значительное внимание уделяется разработке нано- и микроносителей с использованием биосовместимых и биоразлагаемых материалов для медицинского и биотехнологического применения. Как правило, размер носителя, форма, пористость, способность к разложению и электрокинетический потенциал (ζ -потенциал) могут влиять на скорость и эффективность высвобождения лекарственного средства [1–4]. В этом контексте полимерный материал и процесс микрокапсулирования являются решающими факторами, определяющими эффективность и стабильность таких систем. Бактериальные полигидроксиканоаты стали одними из основных биоразлагаемых

полимеров для разработки систем контролируемой и пролонгированной доставки лекарств [5]. Полигидроксиканоаты особенно привлекательны для использования в доставке лекарств благодаря таким свойствам, как нетоксичность, термopластичность и биоразлагаемость. Особое внимание следует уделить биосовместимости этих полимеров с точки зрения их потенциала в препаратах с контролируемым высвобождением [6–9]. Наиболее популярным методом получения микро- и наночастиц является эмульсионный метод. С помощью этого метода получены микро- и наночастицы полигидроксиканоатов, нагруженные различными лекарственными средствами (антибиотики, анестетики, стероиды, гормоны, противораковые и про-

тивовоспалительные средства) [10–14]. Другим простым, экономичным и легко масштабируемым процессом получения микросфер или микрокапсул для депонирования различных биологически активных веществ в фармацевтической, химической, косметической и пищевой промышленности является метод распылительного высушивания [15–19]. Одно из основных преимуществ метода – это возможность получать частицы с высокой эффективностью инкапсуляции лекарственных средств в отличие от эмульсионного метода, при котором лекарственное средство разделяется между фазами в эмульсии, в результате это может привести к снижению вышеуказанного показателя [20, 21]. Несмотря на перспективность данного метода, в литературе присутствует не так много исследований получения микрочастиц из полигидроксиалканоатов, нагруженных лекарственными средствами. С помощью метода распылительного высушивания были получены микрочастицы, содержащие различные противоопухолевые, противовоспалительные и антибактериальные препараты [22–24]. Были получены микрочастицы из полигидроксиалканоатов, содержащие парацетамол и паклитаксел [25, 26], а также цефтриаксон и 5-фторурацил [27].

Этамзилат – кровоостанавливающее средство, которое обладает также ангиопротекторным и проагрегантным действием. Применяется для лечения и профилактики пред-, пер- и послеоперационных капиллярных кровотечений. Рекомендуемый режим дозирования составляет 3–4 раза в сутки, что необходимо для поддержания концентрации этамзилата в плазме выше его минимальной эффективной концентрации [28]. В связи с этим представляется перспективной разработка пролонгированной формы этамзилата для снижения частоты введения и интенсивности побочных эффектов. Целью проведенной работы было получение микрочастиц из полигидроксиалканоатов, содержащих гемостатический препарат этамзилат, эмульсионным методом и методом распылительного высушивания, а также исследование их физико-химических свойств.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для получения микрочастиц использовали высокоочищенный образец поли(3-гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерата) (П(ЗГВ)) (содержание звеньев 3-гидроксивалерата (ЗГВ) = 11%; средневесовая молекулярная масса $M_w = 479$ кДа; степень кристалличности $C_x = 72\%$; температура плавления $T_{пл} = 180$ °C), синтезированный методом микробной ферментации в лаборатории новых биоматериалов Сибирского федерального университета (г. Красноярск, Россия). В качестве препарата для депонирования использовали гемостатик и ангиопротектор – этамзилат (LEK d.d., Словения).

Полимерные микрочастицы получали двумя способами: эмульсионным методом и методом распылительного высушивания. Эмульсионный метод основан на выпаривании растворителя из двойной эмульсии. Для этого к 1%-му раствору П(ЗГВ) в дихлорметане («Экос-1», Россия) добавляли этамзилат в соотношении 20% от массы полимера. Полученную эмульсию постепенно вливали в 100 мл 0,5%-го водного раствора поливинилового спирта ($M_w = 67–72$ кДа, степень деацетилирования – 97–99%, Sigma-Aldrich, США) при перемешивании магнитной мешалкой со скоростью 750 об/мин.

Полученную двойную эмульсию оставляли на 24 ч при постоянном механическом перемешивании до полного испарения растворителя. Микрочастицы собирали центрифугированием (9000 об/мин, 5 мин), промывали дистиллированной водой и высушивали в термостате при 37 °C. Метод распылительного высушивания с использованием Mini Spray Dryer B290 (BUCHI Laboratory Equipment, Швейцария) осуществляли по ранее описанной методике [29]. Для загрузки микрочастиц этамзилатом использовали 1,5%-й раствор П(ЗГВ) в дихлорметане. В полученный раствор добавляли препарат в тех же соотношениях, что и для эмульсионного метода, и гомогенизировали с помощью ультразвука мощностью 5 Вт в течение 1 мин. Полученную гомогенную суспензию поддерживали при непрерывном перемешивании на магнитной мешалке (700 об/мин) и распыляли через распылительную насадку при описанных выше параметрах установки [29].

Морфологию микрочастиц изучали с применением сканирующей электронной микроскопии на микроскопе TM-4000 (Hitachi, Япония). Напыление платины на образцы проводили на установке K575XD Turbo (Emitech, Англия). Анализатор частиц Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания) использовали для определения ζ -потенциала с помощью электрофоретического светорассеяния, а также для определения размерного распределения микрочастиц. Измерения проводились автоматически по стандартной методике, рекомендованной производителем, в трехкратной повторности. Для оценки высвобождения лекарственного средства в водной среде образцы стерильных сухих частиц помещали в фосфатно-солевой буфер («Росмедбио», Россия, pH 7,3–7,4) в небольшие пробирки ($n = 3$). Пробирки выдерживали в термостате при 37 °C в течение 24 дней. Высвобождение препарата из микрочастиц *in vitro* определяли спектрофотометрически по его исходной и остаточной концентрации в эмульсии при 301 нм на спектрофотометре Genesys 10S UV-Vis (Thermo Scientific, США).

Определяли высвобождение лекарственного средства DR в фосфатном буфере по следующей формуле:

$$DR = \frac{r}{e} \times 100\%,$$

где r – выход лекарственного препарата, мг/мл; e – количество лекарственного препарата, включаемое в полимерную матрицу, мг/мл.

Дополнительно рассчитывали кинетики выхода препарата из микрочастиц, полученных двумя методами, а также коэффициент корреляции R . Кинетическая модель с самым высоким значением R была признана более подходящей.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Микрочастицы из биоразлагаемого П(ЗГВ) с депонированным гемостатическим препаратом этамзилатом были получены двумя способами: эмульсионным методом и методом распылительного высушивания. Полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа фотографии полимерных микроносителей представлены на рис. 1. Все микрочастицы, полученные эмульсионным методом, имели сферическую форму. Небольшие дефекты наблюдались на поверхности частиц

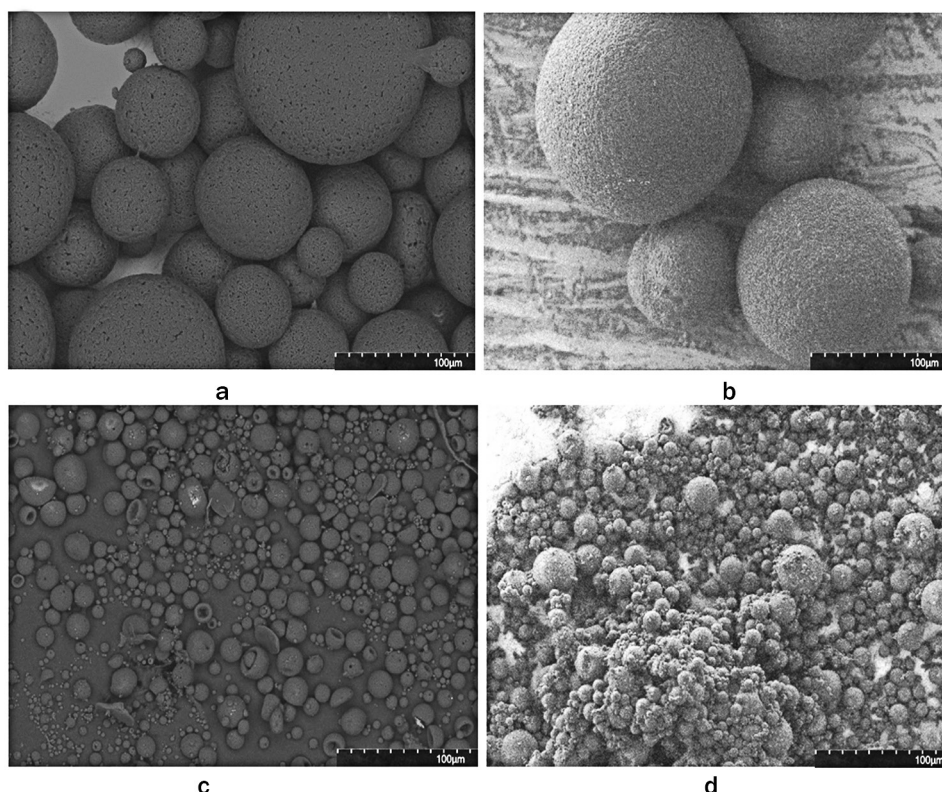


Рис. 1. Выполненные с помощью сканирующего электронного микроскопа фотографии микрочастиц поли(3-гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерата), полученных эмульсионным методом (а, b) и методом распылительного высушивания (с, d): а, с – микрочастицы без препарата; b, d – микрочастицы с депонированным этамзилатом

Fig. 1. Taken with a scanning electron microscope photos of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) microparticles obtained by the emulsion method (a, b) and spray drying (c, d): a, c – microparticles without the drug; b, d – microparticles with deposited ethamsylate

и свидетельствовали о возможных явлениях адгезии и агрегации микрочастиц в процессе формирования. Микрочастицы, полученные методом распылительного высушивания, также имели правильную сферическую форму, но были неоднородны по размеру, их средний диаметр варьировался от 5 до 30 мкм.

Также необходимо отметить, что при методе распылительного высушивания депонирование этамзилата повлияло на способность держать форму. Возможно, микрочастицы из П(ЗГВ) представляют собой полые сферы, которые могут схлопываться при отсутствии наполнителя внутри, как видно на рис. 1, с.

Образование агрегатов из микрочастиц может быть связано с возможным слиянием капель полимера в процессе распылительного высушивания.

Результаты исследования физико-химических свойств микроносителей представлены в табл. 1. ζ -Потенциал микрочастиц характеризует знак и величину поверхностного заряда: отрицательный знак указывает на преобладание отрицательно заряженных групп на поверхности, обеспечивая электростатическую стабилизацию коллоидной суспензии за счет отталкивания частиц. Величина $|\zeta|$ определяет коллоидную стабильность: $|\zeta| > 30$ мВ – высокая стабильность (сильное элек-

Таблица 1. Характеристики микрочастиц поли(3-гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерата) с депонированным этамзилатом в зависимости от способа получения

Table 1. Characteristics of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) microparticles with deposited ethamsylate depending on the production method

Образец	Средний диаметр, μm	Индекс полидисперсности	Электрокинетический потенциал, mV	Эффективность инкапсулирования, %	Выход, %
П(ЗГВ)-МЧ (эмульс.)	76 $\pm$ 0,613	0,420 $\pm$ 0,023	-27,5 $\pm$ 0,901	–	93
П(ЗГВ)+ этамзилат (эмульс.)	85 $\pm$ 0,546	0,387 $\pm$ 0,012	-26,5 $\pm$ 0,602	82,3 $\pm$ 0,102	92
П(ЗГВ)-МЧ (РВ)	15 $\pm$ 0,480	0,467 $\pm$ 0,031	-22,3 $\pm$ 0,400	–	90
П(ЗГВ)+ этамзилат (РВ)	18 $\pm$ 0,632	0,670 $\pm$ 0,016	-15,6 $\pm$ 0,412	74,5 $\pm$ 0,203	88

Примечание. Здесь и в табл. 2 РВ – метод распылительного высушивания. МЧ – микрочастицы; П(ЗГВ) – поли(3-гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерат).

тростатическое отталкивание), 10–30 мВ – умеренная, < 10 мВ – склонность к агрегации. Все полученные микро-частицы имели отрицательные значения ζ -потенциала. Микро-частицы, полученные эмульсионным методом, имели более высокие абсолютные значения ζ -потенциала (27,5 мВ), что подтверждает относительную физическую стабильность образцов без лекарственной нагрузки, и средний диаметр ($76 \pm 0,613$ мкм). При депонировании препарата отмечалось увеличение среднего диаметра микро-частиц до $85 \pm 0,546$ мкм и некоторое снижение абсолютного значения ζ -потенциала до 26,5 мВ.

Микро-частицы без лекарственной нагрузки, полученные методом распылительного высушивания, имели абсолютное значение ζ -потенциала 22,3 мВ. Средний диаметр микроносителей также несколько увеличился после включения препарата и составил $18 \pm 0,632$ мкм. Следует отметить, что абсолютные значения ζ -потенциала микроносителей П(ЗГВ), полученных методом распылительного высушивания, ниже, чем у микро-частиц, полученных эмульсионным методом, независимо от депонирования препарата. Это может быть связано с гидрофобностью самого полимера и отсутствием поверхностно-активных веществ, а именно поливинилового спирта, на поверхности частиц, используемых в эмульсионном методе. Похожий эффект был отмечен в работе [30]: стабилизатор эмульсии поливинилового спирта прочно закрепился на поверхности частиц. Анализ литературы показал, что опубликованные данные по размерам микро-частиц из полигидроксиканоатов различаются [10, 31]. В работе А.В. Муруевой и др. были получены микро-частицы из полигидроксиканоатов со средним диаметром от 0,8 до 65,0 мкм и значениями ζ -потенциала от -18 до -50 мВ [27].

Для выявления стабильности полимерных микро-частиц П(ЗГВ) в жидких средах исследовали изменение их характеристик при воздействии фосфатно-солевого буфера в течение 24 суток (рис. 2).

Динамика изменения ζ -потенциала микроносителей, нагруженных лекарственным средством, была различной при воздействии фосфатно-солевого буфера (рис. 2, а). К концу 24 ч микро-частицы, полученные эмульсионным методом, показали незначительное уменьшение абсолютного значения ζ -потенциала (до 20,1 мВ) при высвобождении препарата в среду. Однако к седьмым суткам абсолютное значение ζ -потенциала увеличилось практически до исходных значений и к концу эксперимента составило $25,95 \pm 0,40$ мВ.

Абсолютные значения ζ -потенциала микро-частиц, полученных методом распылительного высушивания, варьировались незначительно и к концу эксперимента составили 14,3 мВ. Некоторое увеличение размеров, наблюдаемое в течение первых суток, по-видимому, связано с относительно низкими абсолютными значениями ζ -потенциала микро-частиц, полученных методом распылительного высушивания, что и могло стать причиной их агрегации. Дальнейшее наблюдение (до 576 ч) не выявило существенных изменений в размерах.

В зависимости от способа получения микро-частиц выход препарата в модельную среду различался. В первый день наблюдения средний выход лекарственных препаратов составил около 45% (эмульсия П(ЗГВ)) и около 22% (распылительное высушивание П(ЗГВ)). В дальнейшем концентрация препарата в среде увели-

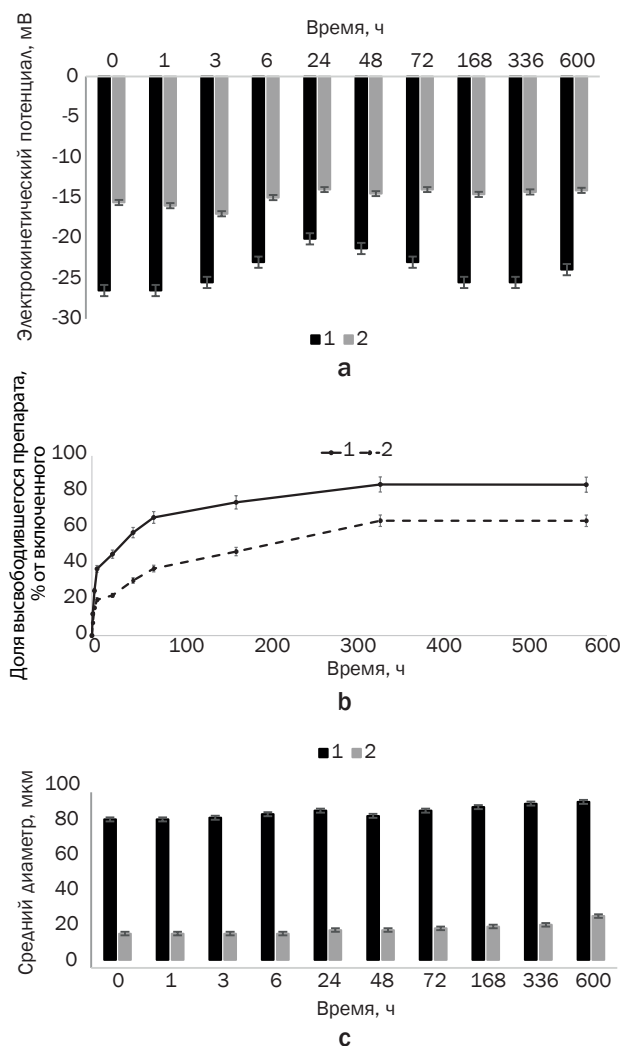


Рис. 2. Изменение электрокинетического потенциала (а) и среднего диаметра (с) микро-частиц поли(3-гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерата), нагруженных этамзилатом: 1 – эмульсионный метод, 2 – метод распылительного высушивания при экспозиции в буферном растворе при 37 °С на фоне высвобождения препарата в среду (b)

Fig. 2. Change in the electrokinetic potential (a) and average diameter (c) of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) microparticles loaded with ethamsylate: 1 – emulsion method, 2 – spray drying method, during exposure in a buffer solution at 37 °C against the background of the release of the drug into the medium (b)

чивалась в среднем на 8–9% в сутки (рис. 2, b). Максимальный выход этамзилата составил: 83,9% для частиц, полученных из эмульсии, 63,8% для частиц, полученных методом распылительного высушивания. Следует отметить отсутствие «эффекта взрыва» при высвобождении препарата в системах, что является важным показателем качества производимой системы доставки.

Математические модели, такие как модель нулевого порядка, первого порядка, Хигучи и Корсмейера – Пеппаса, были изучены для определения профиля выхода препарата из микро-частиц. Для определения оптимальной модели были посчитаны значения коэф-

Таблица 2. Значения коэффициента детерминации для различных моделей кинетики выхода препарата

Table 2. Coefficient of determination values for different models of drug release kinetics

Образец	Кинетическая модель			
	Нулевого порядка	Первого порядка	Хигучи	Корсмейера – Пеппаса
П(ЗГВ) + этамзилат (эмульс.)	0,4460	0,7525	0,6416	0,2243
П(ЗГВ) + этамзилат (РВ)	0,2337	0,8389	0,6744	0,3255

фициентов детерминации R^2 (табл. 2). Исходя из этих данных, наиболее подходящей моделью для кинетики выхода этамзилата из микрокапсул, полученных двумя методами, была выбрана модель первого порядка.

Модель первого порядка описывает процесс высвобождения активного вещества на основе предположения о том, что скорость оттока зависит только от концентрации препарата в системе. Эта модель часто используется для анализа высвобождения веществ из пористых матриц, таких как полимерные микрокапсулы. Высвобождение происходит в основном за счет диффузии растворенного вещества к поверхности полимера и его последующего выхода в окружающую среду. Данный процесс может быть ограничен как диффузией, так и эрозией полимера.

Самые низкие значения R^2 были получены для модели Корсмейера – Пеппаса, которая учитывает растворимость лекарств в воде. Для микрокапсул, полученных эмульсионным методом, значение R^2 составило 0,2243, для микрокапсул, полученных методом распылительного высушивания – 0,3255.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для получения микрокапсул из П(ЗГВ) с депонированным гемостатическим препаратом этамзилатом были использованы эмульсионный метод и метод распылительного высушивания. В ходе работы были изучены морфология поверхности микрокапсул с помощью сканирующей электронной микроскопии, ζ -потенциал, а также высвобождение препарата с оценкой моделей кинетики высвобождения. Результаты исследования показали, что способ изготовления микрокапсул существенно влияет на величину высвобождения лекарственного средства и практически не влияет на величину ζ -потенциала. Также проиллюстрировано, что загрузка микрокапсул лекарственным средством не оказывает существенного влияния на размер и ζ -потенциал. По результатам исследований этамзилат может быть включен в состав микрокапсул П(ЗГВ) как эмульсионным методом, так и методом распылительного высушивания с удовлетворительными показателями эффективности депонирования, высвобождения препарата и стабильности в модельной среде.

REFERENCES

1. Delgado A.V., González-Caballero F., Hunter R.J., Koopal L.K., Lyklema J. Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2007;309(2):194-224. DOI: 10.1016/j.jcis.2006.12.075.
2. Kaasalainen M., Mäkilä E., Riikonen J., Kovalainen M., Järvinen K., Herzig K.-H., et al. Effect of isotonic solutions and peptide adsorption on zeta potential of porous silicon nanoparticle drug delivery formulations. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012;431(1-2):230-236. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.04.059.
3. How C.W., Rasedee A., Manickam S., Rosli R. Tamoxifen-loaded nanostructured lipid carrier as a drug delivery system: Characterization, stability assessment and cytotoxicity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2013;112:393-399. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2013.08.009.
4. Kovačević A.B., Müller R.H., Savić S.D., Vuleta G.M., Keck C.M. Solid lipid nanoparticles (SLN) stabilized with polyhydroxy surfactants: Preparation, characterization and physical stability investigation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2014;444:15-25. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2013.12.023.
5. Lizarraga-Valderrama L.R., Panchal B., Thomas C., Boccaccini A.R., Roy I. Biomedical applications of polyhydroxyalkanoates. In: Neves N.M., Reis R.L. (eds). *Biomaterials from nature for advanced devices and therapies*. John Wiley & Sons; 2016, p. 339-383. DOI: 10.1002/9781119126218.ch20.
6. Pryadko A., Surmeneva M.A., Surmenev R.A. Review of hybrid materials based on polyhydroxyalkanoates for tissue engineering applications. *Polymers*. 2021;13(11):1738. DOI: 10.3390/polym13111738.
7. Pulingam T., Appaturi J.N., Parumasivam T., Ahmad A., Sudesh K. Biomedical applications of polyhydroxyalkanoate in tissue engineering. *Polymers*. 2022;14(11):2141. DOI: 10.3390/polym14112141.
8. Gregory D.A., Taylor C.S., Fricker A.T.R., Asare E., Tetali S.S.V., Haycock J.W., et al. Polyhydroxyalkanoates and their advances for biomedical applications. *Molecular Medicine*. 2022;28(4):331-342. DOI: 10.1016/j.molmed.2022.01.007.
9. Bonartsev A.P., Bonartseva G.A., Reshetov I.V., Kirpichnikov M.P., Shaitan K.V. Application of polyhydroxyalkanoates in medicine and the biological activity of natural poly(3-hydroxybutyrate). *Acta Naturae*. 2019;11(2):4-16. DOI: 10.32607/20758251-2019-11-2-4-16. EDN: HQISMC.
10. Prakash P., Lee W.-H., Loo C.-Y., Wong H.S.J., Parumasivam T. Advances in polyhydroxyalkanoate nanocarriers for effective drug delivery: an overview and challenges. *Nanomaterials*. 2022;12(1):175. DOI: 10.3390/nano12010175.
11. Ladhari S., Vu N.-N., Boisvert C., Saidi A., Nguyen-Tri P. Recent development of polyhydroxyalkanoates (PHA)-based materials for antibacterial applications: a review. *ACS Applied Bio Materials*. 2023;6(4):1398-1430. DOI: 10.1021/acsabm.3c00078.
12. Kalia V.C., Patel S.K.S., Lee J.-K. Exploiting polyhydroxyalkanoates for biomedical applications. *Polymers*. 2023;15(8):1937. DOI: 10.3390/polym15081937.
13. Aguilar-Rabiela A.E., Homaeigohar S., González-Castillo E.I., Sánchez M.L., Boccaccini A.R. Comparison

between the astaxanthin release profile of mesoporous bioactive glass nanoparticles (MBGNs) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV)/MBGN composite microspheres. *Polymers*. 2023;15(11):2432. DOI: 10.3390/polym15112432.

14. Alregib A.H., Tan H.Y., Wong Y.H., Kasbollah A., Wong E.H., Abdullah B.J.J., et al. Development and physicochemical characterization of a biodegradable microspheres formulation loaded with samarium-153 and doxorubicin for chemo radioembolization of liver tumors. *Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals*. 2023;66(10):308-320. DOI: 10.1002/jlcr.4046.

15. Lucas J., Ralaivao M., Estevinho B.N., Rocha F. A new approach for the microencapsulation of curcumin by a spray drying method, in order to value food products. *Powder Technology*. 2020;362:428-435. DOI: 10.1016/j.powtec.2019.11.095.

16. Baltrusch K.L., Torres M.D., Domínguez H., Flórez-Fernández N. Spray-drying microencapsulation of tea extracts using green starch, alginate or carrageenan as carrier materials. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022;203:417-429. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2022.01.129.

17. Burhan A.M., Abdel-Hamid S.M., Soliman M.E., Sammour O.A. Optimisation of the microencapsulation of lavender oil by spray drying. *Journal of Microencapsulation*. 2019;36(3):250-266. DOI: 10.1080/02652048.2019.1620355.

18. Yang M., Liang Z., Wang L., Qi M., Luo Z., Li L. Microencapsulation delivery system in food industry – challenge and the way forward. *Advances in Polymer Technology*. 2020;2020(1):7531810. DOI: 10.1155/2020/7531810.

19. Shi N.-Q., Zhou J., Walker J., Li L., Hong J.K.Y., Olsen K.F., et al. Microencapsulation of luteinizing hormone-releasing hormone agonist in poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres by spray-drying. *Journal of Controlled Release*. 2020;321:756-772. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.01.023.

20. Zimmermann R., Leal B.B.J., Braghirolli D.I., Pranke P. Production of nanostructured systems: main and innovative techniques. *Drug Discovery Today*. 2023;28(2):103454. DOI: 10.1016/j.drudis.2022.103454.

21. Strojewski D., Krupa A. Spray drying and nano spray drying as manufacturing methods of drug-loaded polymeric particles. *Polymers in Medicine*. 2022;52(2):101-111. DOI: 10.17219/pim/152230.

22. Kumar M., Chawla P.A., Faruk A., Chawla V. Spray drying as an effective method in the development of solid

self-emulsifying drug delivery systems. *Current Drug Delivery*. 2022;20(5):508-525. DOI: 10.2174/156720181966620516103042.

23. Malamataris M., Charisi A., Malamataris S., Kachrimanis K., Nikolakakis I. Spray drying for the preparation of nanoparticle-based drug formulations as dry powders for inhalation. *Processes*. 2020;8(7):788. DOI: 10.3390/pr8070788.

24. Díaz-Montes E. Wall materials for encapsulating bioactive compounds via spray-drying: a review. *Polymers*. 2023;15(12):2659. DOI: 10.3390/polym15122659.

25. Re M.-I. Formulating drug delivery systems by spray drying. *Drying Technology*. 2006;24(4):433-446. DOI: 10.1080/07373930600611877.

26. Zernov A.L., Bonartsev A.P., Yakovlev S.G., Myshkina V.L., Makhina T.K., Parshina E.S., et al. Low molecular weight poly(3-hydroxybutyrate) microparticles synthesized by piezoelectric spray drying for the sustained release of paclitaxel. *Nanotechnologies in Russia*. 2017;12:218-225. DOI: 10.1134/S1995078017020136.

27. Murueva A.V., Shershneva A.M., Shishatskaya E.I., Volova T.G. Characteristics of microparticles based on resorbable polyhydroxyalkanoates loaded with antibacterial and cytostatic drugs. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(19):14983. DOI: 10.3390/ijms241914983.

28. Garay R.P., Chiavaroli C., Hannaert P. Therapeutic efficacy and mechanism of action of ethamsylate, a long-standing hemostatic agent. *American Journal of Therapeutics*. 2006;13(3):236-247. DOI: 10.1097/01.mjt.0000158336.62740.54.

29. Shershneva A.M., Murueva A.V., Shishatskaya E.I., Shishatskaya E.I., Volova T.G. Study of electrokinetic potential of drug micro-carriers prepared from resorbable polymers bioplastotan. *Biophysics*. 2014;59:561-567. DOI: 10.1134/S000635091404023X.

30. Francis L., Meng D., Knowles J., Keshavarz T., Boccaccini A.R., Roy I. Controlled delivery of gentamicin using poly (3-hydroxybutyrate) microspheres. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011;12(7):4294-4314. DOI: 10.3390/ijms12074294.

31. Luciano B. Polyhydroxyalkanoates based systems: the future of drug delivery and tissue engineering devices. In: Mishra A.K., Hussain C.M. (eds). *Bio-based nanomaterials: synthesis protocols, mechanisms and applications*. Elsevier: Amsterdam; 2022, p. 133-169. DOI: 10.1016/B978-0-323-85148-0.00004-X.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Позднякова Александра Валерьевна,
младший научный сотрудник,
Сибирский государственный университет науки
и технологий имени академика М.Ф. Решетнёва,
660049, г. Красноярск, ул. Семафорная, 433/1,
Российская Федерация,
✉ pozdniakovaav@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0007-0989-9285>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Alexandra V. Pozdniakova,
Junior Researcher,
Reshetnev Siberian State University
of Science and Technology,
433/1, Semaforная St., Krasnoyarsk, 660049,
Russian Federation,
✉ pozdniakovaav@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0007-0989-9285>

Муруева Анастасия Владимировна,

к.б.н.,
научный сотрудник,
Институт биофизики СО РАН –
обособленное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Красноярский научный центр СО РАН»,
660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/50,
Российская Федерация,
научный сотрудник,
Сибирский федеральный университет,
660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79,
Российская Федерация,
goreva_a@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0006-5423-6002>

Шершнева Анна Михайловна,

к.б.н., научный сотрудник,
Сибирский федеральный университет,
660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79,
Российская Федерация,
sheranna@inbox.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9259-2041>

Шабанов Александр Васильевич,

к.ф.-м.н., старший научный сотрудник,
Институт физики имени Л.В. Киренского СО РАН –
обособленное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Красноярский научный центр СО РАН»,
660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/38,
Российская Федерация,
alexch_syb@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2389-4698>

Шишацкая Екатерина Игоревна,

д.б.н.,
главный научный сотрудник,
Институт биофизики СО РАН –
обособленное подразделение
Федерального исследовательского центра
«Красноярский научный центр СО РАН»,
660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50/50,
Российская Федерация,
заведующий кафедрой,
Сибирский федеральный университет,
660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79,
Российская Федерация,
EShishatskaya@sfu-kras.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7967-243X>

Anastasiya V. Murueva,

Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Institute of Biophysics of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
Federal Research Center “Krasnoyarsk
Science Center of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences”,
50/50, Akademgorodok St., Krasnoyarsk, 660036,
Russian Federation,
Researcher,
Siberian Federal University,
79, Svobodny Ave., Krasnoyarsk, 660041,
Russian Federation,
goreva_a@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0006-5423-6002>

Anna M. Shershneva,

Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Siberian Federal University,
79, Svobodny Ave., Krasnoyarsk, 660041,
Russian Federation,
sheranna@inbox.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9259-2041>

Alexander V. Shabanov,

Cand. Sci. (Physics and Mathematics),
Senior Researcher,
L.V. Kirensky Institute of Physics of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences, Federal Research
Center “Krasnoyarsk Science Center of the Siberian
Branch of the Russian Academy of Sciences”,
50/38, Akademgorodok St., Krasnoyarsk, 660036,
Russian Federation,
alexch_syb@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2389-4698>

Ekaterina I. Shishatskaya,

Dr. Sci. (Biology),
Chief Researcher,
Institute of Biophysics of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences,
Federal Research Center “Krasnoyarsk
Science Center of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences”,
50/50, Akademgorodok St., Krasnoyarsk, 660036,
Russian Federation,
Head of Department,
Siberian Federal University,
79, Svobodny Ave., Krasnoyarsk, 660041,
Russian Federation,
EShishatskaya@sfu-kras.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7967-243X>

Вклад авторов

А.В. Позднякова – проведение исследования, формальный анализ, валидация результатов, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.
А.В. Муруева – разработка методологии, валидация результатов.
А.М. Шершнева – разработка методологии, валидация результатов.
А.В. Шабанов – проведение исследования, визуализация.
Е.И. Шишацкая – разработка концепции.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 25.03.2025.
Одобрена после рецензирования 24.10.2025.
Принята к публикации 02.03.2026.

Contribution of the authors

Alexandra V. Pozdniakova – investigation, formal analysis, validation, writing – original draft, editing.
Anastasiya V. Murueva – methodology, validation.
Anna M. Shershneva – methodology, validation.
Alexander V. Shabanov – investigation, visualization.
Ekaterina I. Shishatskaya – conceptualization.

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 25.03.2025.
Approved after reviewing 24.10.2025.
Accepted for publication 02.03.2026.

Научная статья
УДК 579.69+579.25
EDN: LMRWQY
DOI: 10.21285/achb.1026



Бактериальная ассоциация *Bacillus* sp. MX3 и *Ensifer adhaerens* M1 для эффективной деструкции перфторалкильных соединений

С.Н. Стариков✉, Д.А. Шарипов, С.П. Четвериков

Уфимский институт биологии – обособленное структурное подразделение
Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Российская Федерация

Аннотация. Перфторалкильные соединения являются стойкими органическими загрязнителями, устойчивыми к природной деградации и представляющими угрозу для экосистем и здоровья человека. Цель проведенного исследования заключалась в оценке эффективности микробной ассоциации *Bacillus* sp. MX3 и *Ensifer adhaerens* M1 в разложении перфтороктансульфоновой (C₈) и перфторнонановой (C₉) кислот. Эксперименты проводили в жидкой среде и модельной почвенной системе. Деградацию оценивали по накоплению фторид-ионов (ионообменная хроматография) и снижению концентрации загрязнителей (жидкостная tandemная масс-спектрометрия). Геном штамма MX3 был секвенирован для выявления генов, потенциально вовлеченных в деградацию. В жидкой среде комбинация штаммов обеспечивала более интенсивное разложение соединений, чем монокультуры, достигая 8,6 мг/л (C₈) и 8,7 мг/л (C₉) фторид-ионов за 9 суток. В почве наибольшая эффективность деградации также наблюдалась при совместной аугментации M1 + MX3, обеспечивающей снижение концентрации C₉ и C₈ на 74 и 64% соответственно за 60 суток. Монокультура M1 снижала содержание C₉ на 34% и C₈ на 33%, а MX3 — на 42 и 52% соответственно. Секвенирование штамма MX3 выявило гены, участвующие в метаболизме перфтороктансульфоновой и перфторнонановой кислот: *dehH1* (галоацетатдегалогеназа), *CrcB* (транспортер фторид-ионов) и *SsuE* (десульфонирование). Совместное действие штаммов M1 и MX3 повышает эффективность разложения соединений за счет кооперативных метаболических механизмов. Эти штаммы перспективны для биологической очистки загрязненных почв и воды.

Ключевые слова: биodeградация, биоаугментация, *Ensifer adhaerens* M1, *Bacillus* sp. MX3, ремедиация, перфторалкильные соединения

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (номер гранта 23-24-00154).

Для цитирования: Стариков С.Н., Шарипов Д.А., Четвериков С.П. Бактериальная ассоциация *Bacillus* sp. MX3 и *Ensifer adhaerens* M1 для эффективной деструкции перфторалкильных соединений // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 101–111. DOI: 10.21285/achb.1026. EDN: LMRWQY.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Bacterial consortium of *Bacillus* sp. MX3 and *Ensifer adhaerens* M1 for efficient degradation of perfluoroalkyl compounds

Sergei N. Starikov✉, Danil A. Sharipov, Sergei P. Chetverikov

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences,
Ufa, Russian Federation

Abstract. As persistent organic pollutants that are resistant to natural degradation, perfluoroalkyl compounds pose a significant threat to ecosystems and human health. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of a microbial consortium consisting of *Bacillus* sp. MX3 and *Ensifer adhaerens* M1 for the degradation of perfluorooctanesulfonic

(C₈) and perfluorononanoic (C₉) acids. The experiments were conducted in liquid medium and in a model soil system. Degradation was assessed based on fluoride ion accumulation (ion chromatography) and the decrease in pollutant concentrations (liquid chromatography–tandem mass spectrometry). The genome of strain MX3 was sequenced to identify genes potentially involved in degradation. In liquid medium, the combined use of the strains resulted in a more intensive degradation compared to monocultures, reaching 8.6 mg/L (C₈) and 8.7 mg/L (C₉) of fluoride ions over 9 days. In soil, the highest degradation effectiveness was also observed with co-augmentation of M1 + MX3, resulting in a 74 and 64% reduction in C₉ and C₈ concentrations, respectively, over 60 days. The M1 monoculture reduced C₉ and C₈ levels by 34 and 33%, respectively, while MX3 achieved reductions of 42% and 52%. Sequencing of strain MX3 revealed genes involved in the metabolism of perfluorooctanesulfonic and perfluorononanoic acids, including dehH1 (haloacetate dehalogenase), CrcB (fluoride ion transporter), and SsuE (desulfonation). The combined activity of M1 and MX3 strains enhances degradation effectiveness through cooperative metabolic mechanisms. These strains demonstrate substantial potential for the bioremediation of contaminated soils and water.

Keywords: biodegradation, bioaugmentation, *Ensifer adhaerens* M1, *Bacillus* sp. MX3, remediation, perfluoroalkyl compounds

Funding. The Russian Science Foundation financially supported this work (grant no. 23-24-00154).

For citation: Starikov S.N., Sharipov D.A., Chetverikov S.P. Bacterial consortium of *Bacillus* sp. MX3 and *Ensifer adhaerens* M1 for efficient degradation of perfluoroalkyl compounds. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):101-111. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1026. EDN: LMRWQY.

ВВЕДЕНИЕ

Полифторалкильные соединения (ПФАС) представляют собой класс устойчивых органических соединений, широко применяемых в промышленности в течение более 50 лет благодаря уникальным характеристикам: химической стабильности, термостойкости, водоотталкивающим и поверхностно-активным свойствам [1, 2]. Они используются в производстве противопожарных пен, фторполимеров, антипригарных покрытий, косметики, моющих средств и других продуктов [3]. В то же время именно их устойчивость к деградации, обусловленная прочной связью C-F, делает их стойкими органическими загрязнителями, способными накапливаться в почвах, грунтовых водах, биологических тканях и даже в отдаленных регионах, таких как Антарктика [4, 5].

Токсическое воздействие этих веществ на здоровье человека и экосистемы вызывает серьезные опасения. ПФАС нарушают работу эндокринной системы, негативно влияют на развитие плода и обладают биоаккумулятивным потенциалом [6]. Все перечисленное привело к включению ряда ПФАС в Стокгольмскую конвенцию о стойких органических загрязнителях [1].

Физико-химические методы ремедиации, такие как адсорбция, мембранная фильтрация, озонирование и пиролиз, остаются дорогостоящими и технически сложными [7, 8]. В этом контексте биodeградация с использованием микроорганизмов рассматривается как экологически безопасная и экономически выгодная альтернатива [9]. Ранние представления о «вечности» ПФАС опровергнуты недавними исследованиями, показавшими способность некоторых бактерий разрушать связь C-F [10]. Однако эффективность отдельных микроорганизмов в деградации ПФАС может быть ограниченной. В то же время микробные ассоциации способны обеспечивать более эффективное разложение этих соединений благодаря различным механизмам. К ним относятся комбинированное действие ферментных систем, создание благоприятных условий для каждого участника сообщества, передача электронов между автотрофными и гетеротрофными видами, поддержание баланса азотного цикла, последовательная трансформация промежуточных продуктов разложения, а

также повышение устойчивости к неблагоприятным условиям и оптимизация метаболических путей [11]. Такой комплексный подход делает микробные сообщества более адаптивными и эффективными в процессах биodeградации.

Целью данного исследования является изучение эффективности микробной ассоциации штаммов *Bacillus* и *Ensifer* в биodeградации ПФАС на примере перфтороктансульфоновой (C₈) и перфторнонановой (C₉) кислот.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали микроорганизмы из коллекции Уфимского института биологии – обособленного структурного подразделения Уфимского федерального исследовательского центра РАН (г. Уфа, Россия), способные к деструкции ПФАС: *Ensifer adhaerens* M1 и *Bacillus* sp. MX3. Ранее было показано, что эти штаммы разлагают перфтороктансульфоновую кислоту (C₈) и перфторнонановую кислоту (C₉) с высвобождением фторид-ионов [12, 13].

Штаммы MX3 и M1 были выделены из почвы с территории испытаний средств пожаротушения методом накопительных культур. Оба штамма депонированы в коллекции микроорганизмов Уфимского института биологии под номерами UIB-252 (MX3) и UIB-50 (M1), а штамм MX3 также во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов (ВКМ В-3775D).

Выделение геномной ДНК штамма MX3, полногеномное секвенирование, сборка, проверка качества, аннотация генома, построение минимального филогенетического дерева, идентификация штамма, биоинформационный анализ выполнены по методике, описанной в предыдущем исследовании [14] и также представленной ниже. Геномную ДНК выделяли из биомассы фенол-хлороформным методом [15]. Секвенирование выполнено на оборудовании DNBSEQ-G50 (MGI, Китай), получены парноконцевые прочтения длиной 100 пар нуклеотидов (п.н.). Контроль качества прочтений проведен методом HTQC (High-Throughput Quality Control). Низкокачественные (Q < 25) и короткие (<100 п.н.) прочтения и адаптерные последовательности были удалены с использованием программы Trimomatic версии 0.39 [16].

Геном был собран с помощью программы SPAdes версии 3.15.4 [17]. Для исправления ошибок использовались программы Pilon версии 1.23 [18] и Bowtie2 версии 2.3.5.1 [19]. Для идентификации штамма использованы параметры средней нуклеотидной идентичности (ANI)¹ [20] и цифровой ДНК – ДНК гибридизации (DDH)² [21] с настройками по умолчанию. Контиги короче 500 п.н. были удалены. Аннотирование выполнено с помощью программы Prokka версии 1.14.5 [22]. Анализ последовательностей целевых генов был выполнен с помощью сервиса BLAST NCBI [23] при использовании базы данных nr/nt и WGS. Для построения минимального эволюционного древа на основе полученных межгеномных расстояний использована программа FASTME 2.1.6.1 [24]. Древо было укоренено по середине [25] и визуализировано с помощью ресурса iTOL³ [26]. Функциональный анализ, основанный на метаболических и регуляторных путях, выполнен с помощью KEGG [27]. Геном штамма MX3 депонирован в открытом доступе в GenBank (BioProject № PRJNA1145257).

В исследованиях использовали перфторнонановую и перфтороктансульфоновую кислоты (>98%, Sigma Aldrich, США), ацетонитрил и метанол (Merck, Германия) для высокоэффективной жидкостной хроматографии. Остальные реагенты – категории «ч.д.а.». Для оценки дефторирования штаммы культивировались при температуре 28 °С на жидкой минеральной среде Раймонда [28]. В качестве единственного источника углерода и энергии в среду добавляли 100 мг/л C₈ и C₉ кислоты.

Опыт проводили с черноземной почвой фермерского хозяйства органического земледелия. В почву вносили C₈ или C₉ до концентрации 10 мг/кг сухой почвы. Контрольный вариант был без бактерий. Во втором варианте добавляли штамм M1, в третьем – MX3, в обоих случаях с конечной концентрацией 2×10⁷ КОЕ/г почвы. В четвертом варианте использовали комбинацию штаммов MX3 + M1 с общей

концентрацией 2×10⁷ КОЕ/г. Инкубацию проводили при 28±1 °С, поддерживая влажность на уровне 40% от влагоемкости почвы. Эксперимент длился 60 суток.

Экстракцию ПФАС проводили модифицированным методом, описанным в источнике [29]: 3,5 г почвы, 8,5 мл ацетонитрила/воды (9:1), 400 мкл NaOH (2 М), ультразвук (15 мин), встряхивание (30 мин), центрифугирование (10 мин, 11800 g). Супернатанты выпаривали, сухой остаток растворяли в смеси ацетонитрила и воды (2:3).

Численность микроорганизмов определяли посевом с последовательными разведениями на мясо-пептонном агаре (инкубация при 28 °С). Посевы проводили на 30-е и 60-е сутки эксперимента, выражая результат в КОЕ/г.

Определение содержания ионов F⁻ и ПФАС проводили соответственно при помощи ионной хроматографии и жидкостной хромато-масс-спектрометрии, как описано ранее [14].

Статистический анализ выполняли в Microsoft Excel 2021. Эксперименты проводили в трехкратном повторении. Для обработки данных использовали параметрические методы, включая вычисление среднего, стандартного отклонения и двухсторонний t-тест Стьюдента (p = 0,05).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Опыт в жидкой среде. На первом этапе эксперимента оценивалась эффективность ассоциации MX3 + M1 и одиночных штаммов по накоплению фторид-ионов в среде, что может служить ключевым индикатором процесса дефторирования и подтверждением биодегградации ПФАС [10].

Ассоциация MX3 + M1 показала наибольшее увеличение в среде F⁻ при разложении C₉: 1,3 мг/л через 2 суток и 8,7 мг/л через 9 суток. Штаммы по отдельности высвобождали в среду меньшие количества ионов фтора: MX3 – 5,8 мг/л, M1 – 5,5 мг/л через 9 суток (рис. 1, а).

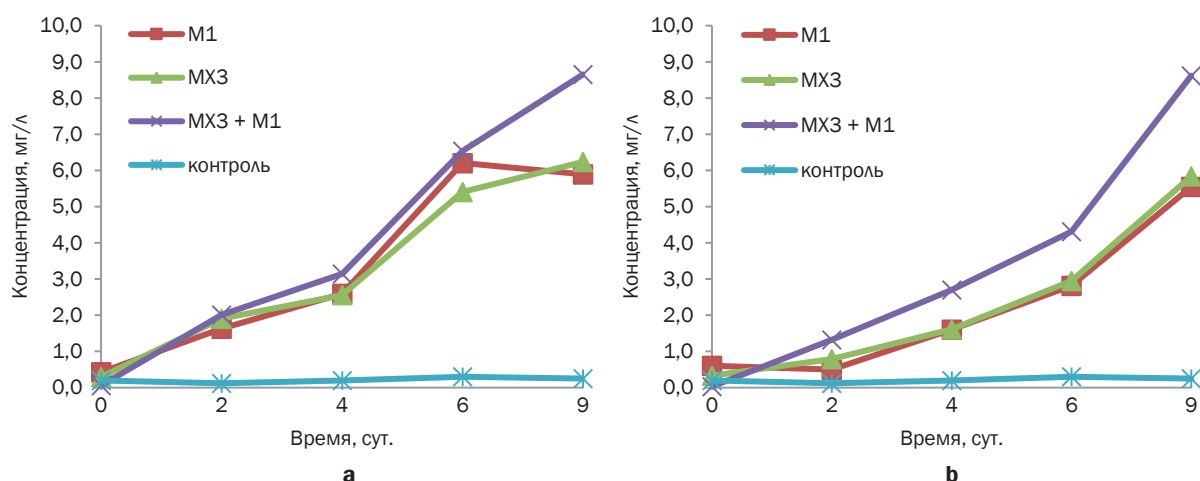


Рис. 1. Динамика накопления фторид-ионов в жидкой среде при разложении перфторнонановой (C₉) (а) перфтороктансульфоновой (C₈) (б) кислот штаммами *Bacillus sp. MX3* и *Ensifer adhaerens* M1 и их ассоциацией

Fig. 1. Dynamics of fluoride ion accumulation in a liquid medium during the decomposition of perfluoronanoic C₉ (а) and sulfonic C₈ (б) by *Bacillus sp. MX3* and *Ensifer adhaerens* M1 strains and their association

¹ ANI Calculation // Ezbiocloud.net. Режим доступа: <https://www.ezbiocloud.net/tools/ani> (дата обращения: 25.02.2026).

² Genome-to-Genome Distance Calculator // Ggdc.dsmz.de. Режим доступа: <https://ggdc.dsmz.de/ggdc.php> (дата обращения: 25.02.2026).

³ ITOL // itol.embl.de. Режим доступа: <https://itol.embl.de/> (дата обращения: 25.02.2026).

Для C_8 совместное внесение штаммов увеличивало концентрацию F до 2 мг/л через 2 суток и 8,6 мг/л через 9 суток, тогда как отдельное применение MX3 и M1 показало меньшую эффективность (рис. 1, b).

В контроле для C_8 и C_9 повышения концентрации фторид-ионов не наблюдалось.

Результаты эксперимента в жидкой среде согласовались с данными предыдущих исследований, демонстрирующих способность некоторых микроорганизмов разлагать ПФАС с выделением ионов фтора [11, 30].

В то же время остается открытым вопрос масштабируемости, так как успешные лабораторные результаты требуют адаптации к реальным условиям [31]. Модельные эксперименты в почве позволяют частично воспроизвести природные условия, обеспечивая более точное понимание биодеструктивного потенциала микроорганизмов в гетерогенных средах. Они служат промежуточным этапом перед полевыми испытаниями, помогая определить оптимальные параметры биоаугментации, включая выбор штаммов, условия культивирования и факторы, влияющие на разложение загрязняющих веществ [32].

Модельный эксперимент в почве. На втором этапе эксперимента проводились модельные испытания в почве для оценки деструктивного потенциала комбинации MX3 + M1.

Результаты эксперимента показали, что ассоциация штаммов MX3 и M1 обеспечила наибольшую эффективность в разложении C_9 и C_8 . В частности, концентрация C_9 снизилась до 7 мг/кг через 30 суток и до 2,6 мг/кг к 60 суткам. В случае одиночной культуры M1 деградация происходила менее интенсивно: содержание соединения практически не изменялось в течение 30 суток, а затем к 60 суткам снизилось до 6,6 мг/кг. Монокультура MX3 показала несколько лучшие результаты, чем M1, но уступила комбинации штаммов: за 30 суток концентрация C_9 уменьшилась до 8,8 мг/кг, а к 60 суткам – до 5,8 мг/кг (рис. 2, a). Аналогичная тенденция выявлена при деградации C_8 : комбинация MX3 + M1 обеспечила снижение концентрации соединения до 3,6 мг/кг к 60 суткам, тогда как монокультуры действовали менее эффективно (4,8 мг/кг для MX3 и 6,7 мг/кг для M1) (рис. 2, b). В контрольных образцах концентрации C_9 и C_8 оставались неизменными на протяжении всего эксперимента.

Анализ динамики численности микроорганизмов выявил некоторые закономерности их адаптации к перфторорганическим соединениям и продуктам их разложения (табл. 1). При разложении исследуемых ПФАС численность бактерий штамма MX3 оставалась в одном порядке на протяжении 60 суток с незначительным снижением, вероятно, связанным со стрессом от присутствия

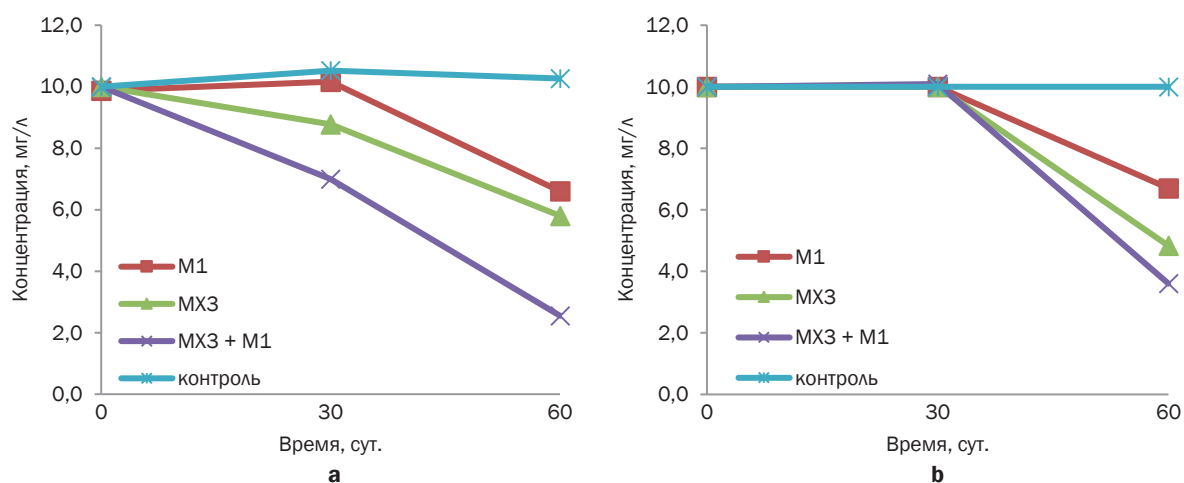


Рис. 2. Снижение концентрации перфторнонановой (C_9) (a) перфтороктансульфоновой (b) (C_8) кислот в почвенном эксперименте штаммами *Bacillus* sp. MX3 и *Ensifer adhaerens* M1 и их ассоциации

Fig. 2. Reduction of perfluorononanoic C_9 (a) and sulfonic C_8 (b) acids in a soil experiment by *Bacillus* sp. MX3 and *Ensifer adhaerens* M1 strains and their association

Таблица 1. Динамика численности штаммов-деструкторов в почве, содержащей перфтороктансульфоновую (C_8) и перфторнонановую (C_9) кислоты, КОЕ/г ($\times 10^6$)

Table 1. Dynamics of destructive strains number in soil containing perfluorooctane sulfonic (C_8) and perfluorononanoic (C_9) acids, CFU/g ($\times 10^6$)

Вариант опыта	C_8			C_9		
	Срок отбора, сут.			Срок отбора, сут.		
	0	30	60	0	30	60
M1	24,6 $\pm$ 2,3	11,8 $\pm$ 1,5	1,4 $\pm$ 0,2	22,2 $\pm$ 1,9	1,2 $\pm$ 0,2	2,4 $\pm$ 0,2
MX3	24,8 $\pm$ 2,5	12,0 $\pm$ 1,2	10,0 $\pm$ 1,1	22,0 $\pm$ 2,2	14,4 $\pm$ 1,5	23,0 $\pm$ 1,9
MX3 + M1	25,0 $\pm$ 2,2	2,0 $\pm$ 0,2	10,3 $\pm$ 0,9	21,9 $\pm$ 2,0	23,8 $\pm$ 2,9	1,0 $\pm$ 0,1
Контроль	15,2 $\pm$ 1,9	0,8 $\pm$ 0,1	$\leq$ 0,1	10,1 $\pm$ 1,2	0,8 $\pm$ 0,1	$\leq$ 0,1

ксенобиотика, с последующим формированием механизмов устойчивости и активации ферментов деградации [33]. К концу эксперимента деградация достигала 52 и 42% соответственно для C_8 и C_9 . Штамм M1 демонстрировал аналогичную динамику деградации (снижение на 33–34% ПФАС), но с более выраженным падением численности (на один порядок), особенно в середине эксперимента. Это может свидетельствовать о токсичности промежуточных продуктов разложения ПФАС, способных ингибировать рост бактерий [34], при этом некоторое увеличение численности к концу эксперимента указывает на возможную адаптацию и повышение эффективности утилизации субстрата.

Ассоциация MX3 + M1 продемонстрировала иную динамику. В случае C_8 титр снижался на порядок к середине опыта, при этом значительного разложения субстрата не наблюдалось. Однако к 60 суткам численность микроорганизмов стремилась к исходной за счет бактерий более устойчивого к токсичным метаболитам штамма MX3, а деструкция достигала 64%. В случае C_9 численность штаммов оставалась стабильной первые 30 суток, что делало его единственным вариантом без спада численности в этот срок. Однако к 60 суткам титр резко снижался до 1×10^6 КОЕ с превалированием бактерий штамма MX3, что являлось ответом на вероятное накопление токсичных метаболитов, образующихся при ускоренной деградации субстрата (разложение ПФАС в этом варианте опыта было максимальным – 74%). В контрольных образцах численность бактерий снизилась на несколько порядков без изменения концентраций загрязнителей. Это свидетельствует об отсутствии раз-

ложения данных соединений природным микробным сообществом почвы в рассматриваемые сроки эксперимента, а также о высокой токсичности ПФАС для естественной микрофлоры.

Сравнение с ранее проведенными исследованиями в гетерогенных средах показывает, что *Rhodococcus jostii* RHA1 снижает концентрацию 6:2 FTSA в песчаной почве на 20% за 25 дней [35], тогда как комбинация штаммов MX3 + M1 разлагает соединение полнее, но за более длительный срок. В то же время эффективность биоразложения ПФАС зависит от химической структуры соединения и типа почвы: соединения с короткими углеродными цепями разлагаются быстрее, а аэробные условия и наличие питательных веществ могут существенно влиять на активность микроорганизмов [36]. Скорость и степень деградации ПФАС также определяются множеством факторов, включая начальную концентрацию загрязнителя и наличие доноров электронов [37]. Этот подход может успешно применяться при разложении галогенированных органических соединений [38, 39] и ПФАС [40].

За последние годы эффективность ассоциаций микроорганизмов была продемонстрирована и в других исследованиях, где ассоциация штаммов способствовала более интенсивному разложению ПФАС по сравнению с одиночными культурами. В частности, в работе [41] показано, что ассоциация штаммов усиливает разложение перфторированных соединений благодаря взаимодействию микроорганизмов: *Luteolibacter* создает благоприятные условия, *Pseudorhodobacter* катализирует десульфурацию и разложение, используя электроны от

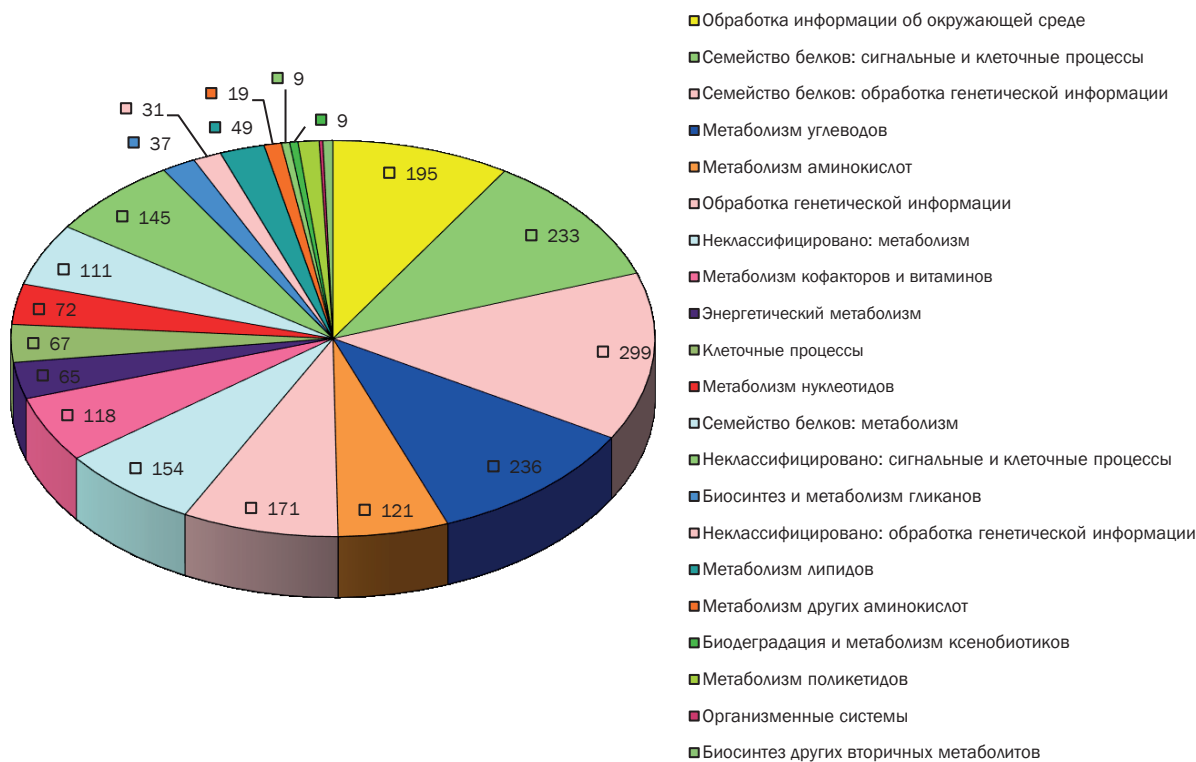


Рис. 3. Распределение генов, аннотированных в геноме штамма *Bacillus sp. MX3*, по функциональным категориям согласно классификации KEGG

Fig. 3. Distribution of genes annotated in the genome of the *Bacillus sp. MX3* strain by functional categories according to the KEGG classification

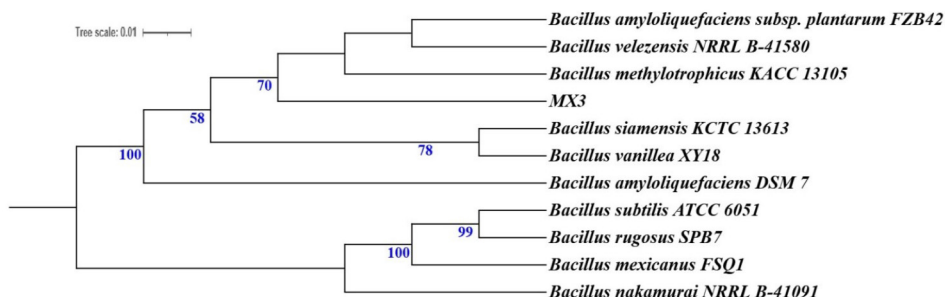


Рис. 4. Полногеномное филогенетическое дерево, отображающее эволюционное положение штамма *Bacillus* sp. MX3

Fig. 4. Genome wide phylogenetic tree showing the evolutionary position of the *Bacillus* sp. MX3 strain

Таблица 2. Генный комплекс *Bacillus* sp. MX3, ответственный за деградацию перфторированных соединений

Table 2. *Bacillus* sp. MX3 gene complex responsible for degradation of perfluorinated compounds

Сокращение	Ген	Функция гена
<i>dehH1</i>	Ген галоацетат дегалогеназы H1	Ферменты класса галоацетат дегалогеназ
<i>CrcB</i>	Ген транспортера фторидов	F-специфические транспортные белки
<i>SsuE</i>	Ген алкансульфонатмонооксигеназы	Десульфирование субстрата

Hydrogenophaga, а *Rhodobacter* и *Rhodopirellula* косвенно поддерживают процесс через азотный цикл. Подобные результаты были показаны и в работе [11], где накопительная культура совместно со штаммом *Acidimicrobium* sp. A6 продемонстрировала более высокий уровень удаления ПФАС, а также активное производство более мелких перфторированных соединений, ацетата и фторид-ионов по сравнению с одиночной культурой A6.

Полногеномное секвенирование. Для исследования механизма деградации ПФАС было проведено полногеномное секвенирование штамма MX3. Аннотирование генома с использованием базы данных KEGG выявило группу генов, вовлеченных в метаболизм ксенобиотиков (рис. 3).

На основе анализа полного генома была предпринята попытка филогенетической идентификации штамма MX3 (рис. 4). Результаты показали, что он принадлежит к роду *Bacillus*, однако точная видовая классификация, даже при наличии полной геномной информации, оказалась затруднительной. В связи с этим штамм был отнесен к таксономической группе *Bacillus* sp.

Ранее штамм *Ensifer adhaerens* M1 продемонстрировал способность к деструкции перфторированных соединений, что свидетельствует о его потенциале в биоремедиации стойких органических загрязнителей [12]. Хотя конкретные гены, ответственные за деградацию перфторированных соединений у *Ensifer adhaerens* M1, в настоящее время не идентифицированы, известно, что представители рода *Ensifer* обладают спектром метаболических путей, позволяющих им разлагать сложные органические молекулы, включая галогенсодержащие ксенобиотики [42].

Возможное взаимодействие штаммов *Bacillus* sp. MX3 и *Ensifer adhaerens* M1 в деградации перфторированных соединений может быть обусловлено взаимодополняющими генетическими механизмами. Анализ полного генома *Bacillus* sp. MX3 выявил ряд генов, потенциально вовлеченных в процессы разложения

перфторированных соединений и устойчивости к фтору (табл. 2). В частности, ген *dehH1* кодирует ферменты класса галоацетатдегалогеназ, способные разрывать углерод-галогеновые связи, что делает их перспективными кандидатами для биodeградации органо-галогеновых соединений, включая фторорганику [43]. Ген *CrcB* кодирует белок-транспортер, участвующий в выведении фторид-ионов из клетки, снижая их токсическое воздействие, что может иметь значение при разложении перфторированных соединений [44]. Кроме того, ген *SsuE* участвует в десульфировании субстратов при дефиците серы, что может способствовать разложению сульфированных перфторированных соединений [45].

С другой стороны, *Ensifer adhaerens* M1 может обладать дополнительными ферментативными системами, дополняющими или усиливающими деградацию, инициированную *Bacillus* sp. MX3. Взаимодействие этих штаммов может привести к более эффективному разложению стойких перфторированных загрязнителей за счет комбинированного действия различных катаболических путей, увеличения скорости трансформации субстратов и снижения токсичности продуктов деградации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показывают, что совокупное действие ферментных систем и устойчивость к продуктам метаболизма ПФАС делают ассоциацию микроорганизмов *Bacillus* sp. MX3 и *Ensifer adhaerens* M1 эффективной основой для биоремедиации окружающей среды, загрязненной фторорганическими соединениями. Использование штаммов в ассоциации способствует более активному разложению C_3 и C_9 ПФАС как в почве, так и в жидкой среде, что подтверждает их перспективность в качестве инновационной технологии для очистки загрязненных объектов.

Тем не менее для дальнейшего развития данной технологии требуются дополнительные исследования.

Они должны быть направлены на детальный анализ метаболитов, образующихся при разложении ПФАС, изучение механизмов взаимодействия микроорга-

низмов в ассоциации, а также оптимизацию условий для практического применения бактериальных ассоциаций в реальных экосистемах.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Stockholm convention secretariat // Conference of the parties of the Stockholm convention on persistent organic pollutants on the work of its 4th meeting (Geneva, 4–8 May 2009). Geneva: Stockholm Convention Secretariat, 2009. P. 66–69.
2. Leung S.C.E., Wanninayake D., Chen D., Nguyen N.-T., Li Q. Physicochemical properties and interactions of perfluoroalkyl substances (PFAS)-Challenges and opportunities in sensing and remediation // *Science of the Total Environment*. 2023. Vol. 905. P. 166764. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.166764.
3. Gaines L.G. Historical and current usage of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): a literature review // *American Journal of Industrial Medicine*. 2023. Vol. 66, no. 5. P. 353–378. DOI: 10.1002/ajim.23362.
4. Kim D.-H., Lee H., Kim K., Kim S., Kim J.H., Ko Y.W., et al. Persistent organic pollutants in the Antarctic marine environment: the influence impacts of human activity, regulations, and climate change // *Environmental Pollution*. 2024. Vol. 363, no. 1. P. 125100. DOI: 10.1016/j.envpol.2024.125100.
5. Kurwadkar S., Dane J., Kanel S.R., Nadagouda M.N., Cawdrey R.W., Ambade B., et al. Per- and polyfluoroalkyl substances in water and wastewater: a critical review of their global occurrence and distribution // *Science of the Total Environment*. 2022. Vol. 809. P. 151003. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.151003.
6. Fenton S.E., Ducatman A., Boobis A., DeWitt J.C., Lau C., Ng C., et al. Per- and polyfluoroalkyl substance toxicity and human health review: Current state of knowledge and strategies for informing future research // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2021. Vol. 40, no. 3. P. 606–630. DOI: 10.1002/etc.4890.
7. Kabiri S., Navarro D.A., Hamad S.A., Grimison C., Higgins C.P., Mueller J.F., et al. Physical and chemical properties of carbon-based sorbents that affect the removal of per- and polyfluoroalkyl substances from solution and soil // *Science of the Total Environment*. 2023. Vol. 875. P. 162653. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.162653.
8. Nzeribe B.N., Crimi M., Mededovic Thagard S., Holsen T.M. Physico-chemical processes for the treatment of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): a review // *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2019. Vol. 49, no. 10. P. 866–915. DOI: 10.1080/10643389.2018.1542916.
9. Zhou T., Li X., Liu H., Zhang Z., Wang Z., Li J., et al. Occurrence, fate, and remediation for per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in sewage sludge: a comprehensive review // *Journal of Hazardous Materials*. 2024. Vol. 466. P. 133637. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2024.133637.
10. Smorada C.M., Sima M.W., Jaffé P.R. Bacterial degradation of perfluoroalkyl acids // *Current Opinion in Biotechnology*. 2024. Vol. 88. P. 103170. DOI: 10.1016/j.copbio.2024.103170.
11. Huang S., Jaffé P. Defluorination of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) by *Acidimicrobium* sp. strain A6 // *Environmental Science & Technology*. 2019. Vol. 53, no. 19. P. 11410–11419. DOI: 10.1021/acs.est.9b04047.
12. Chetverikov S.P., Loginov O.N. A new *Ensifer adhaerens* strain M1 is capable of transformation of perfluorocarboxylic acids // *Microbiology*. 2019. Vol. 88, no. 1. P. 115–117. DOI: 10.1134/S0026261718060085. EDN: PMPMPI.
13. Шарипов Д.А., Худайгулов Г.Г., Стариков С.Н., Четвериков С.П. Дефторирование микроорганизмами новых фторорганических поллютантов // *Естественные и технические науки*. 2023. N 9. С. 10–13. DOI: 10.25633/ETN.2023.09.01. EDN: XRFCWC.
14. Chetverikov S., Hkudaigulov G., Sharipov D., Starikov S. Probable new species of bacteria of the genus *Pseudomonas* accelerates and enhances the destruction of perfluorocarboxylic acids // *Toxics*. 2024. Vol. 12. P. 930. DOI: 10.3390/toxics12120930.
15. Sambrook J., Russell D.W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform // *Cold Spring Harbor Protocols*. 2006. Vol. 3. P. 4455. DOI: 10.1101/pdb.prot4455.
16. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for illumina sequence data // *Bioinformatics*. 2014. Vol. 30, no. 15. P. 2114–2120. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170.
17. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A., Dvorkin M., Kulikov A.S., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing // *Journal of Computational Biology*. 2012. Vol. 19. P. 455–477. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.
18. Walker B.J., Abeel T., Shea T., Priest M., Abouelliel A., Sakthikumar S., et al. Pilon: an integrated tool for comprehensive microbial variant detection and genome assembly improvement // *PLoS One*. 2014. Vol. 9. P. e112963. DOI: 10.1371/journal.pone.0112963.
19. Langmead B., Salzberg S.L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2 // *Nature Methods*. 2012. Vol. 9. P. 357–359. DOI: 10.1038/nmeth.1923.
20. Yoon S.-H., Ha S.-M., Lim J., Kwon S., Chun J. A large-scale evaluation of algorithms to calculate average nucleotide identity // *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2017. Vol. 110. P. 1281–1286. DOI: 10.1007/s10482-017-0844-4.
21. Meier-Kolthoff J.P., Sardà Carbasse J., Peinado-Olarte R.L., Göker M. TYGS and LPSN: a database tandem for fast and reliable genome-based classification and nomenclature of prokaryotes // *Nucleic Acids Research*. 2022. Vol. 50, no. D1. P. D801–D807. DOI: 10.1093/nar/gkab902.
22. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation // *Bioinformatics*. 2014. Vol. 30. P. 2068–2069. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu153.
23. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool // *Journal of Molecular Biology*. 1990. Vol. 215. P. 403–410. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.
24. Lefort V., Desper R., Gascuel O. FastME 2.0: a comprehensive, accurate, and fast distance-based phylogeny inference program // *Molecular Biology and Evolution*. 2015. Vol. 32. P. 2798–2800. DOI: 10.1093/molbev/msv150.
25. Farris J.S. Estimating phylogenetic trees from distance matrices // *American Naturalist*. 1972. Vol. 6. P. 645–667.

26. Letunic I., Bork P. Interactive Tree of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation // *Nucleic Acids Research*. 2021. Vol. 49. P. W293–W296. DOI: 10.1093/nar/gkab301.
27. Kanehisa M. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes // *Nucleic Acids Research*. 2000. Vol. 28, no. 1. P. 27–30. DOI: 10.1093/nar/28.1.27.
28. Raymond R.L. Microbial oxidation of *n*-paraffinic hydrocarbons // *Development Industrial Microbiology*. 1961. Vol. 2, no. 1. P. 23–32.
29. Rankin K., Mabury S.A., Jenkins T.M., Washington J.W. A North American and global survey of perfluoroalkyl substances in surface soils: distribution patterns and mode of occurrence // *Chemosphere*. 2016. Vol. 161. P. 333–341. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.06.109.
30. Park J., Huang S., Koel B.E., Jaffé P.R. Enhanced Feammox activity and perfluorooctanoic acid (PFOA) degradation by *Acidimicrobium* sp. strain A6 using PAA-coated ferrihydrite as an electron acceptor // *Journal of Hazardous Materials*. 2023. Vol. 459. P. 132039. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2023.132039.
31. Soil remediation science and technology / eds J.J. Ortega-Calvo, F. Coulon. Cham: Springer, 2024. 437 p. DOI: 10.1007/978-3-031-60192-7.
32. Hassard F., Castro-Gutierrez V. Fundamental and practical advances in bioremediation of emerging pollutants as add-on treatments for polluted waters // *Frontiers in Microbiology*. 2024. Vol. 15. P. 1514698. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1514698.
33. Kognou A.L.M., Ngane R.A.N., Jiang Z.-H., Xu C.C., Qin W., Inui H. Harnessing the power of microbial consortia for the biodegradation of per- and polyfluoroalkyl substances: challenges and opportunities // *Chemosphere*. 2025. Vol. 374. P. 144221. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2025.144221.
34. Tripathi V., Edrisi S.A., Aloo B.N., Fraceto L.F., Srivastava V., Pant G. Environmental remediation strategies of new and emerging chemical contaminants // *Frontiers in Environmental Chemistry*. 2024. Vol. 5. P. 1500489. DOI: 10.3389/fenvc.2024.1500489.
35. Yang S.-H., Shan L., Chu K.-H. Fate and transformation of 6:2 fluorotelomer sulfonic acid affected by plant, nutrient, bioaugmentation, and soil microbiome interactions // *Environmental Science & Technology*. 2022. Vol. 56, no. 15. P. 10721–10731. DOI: 10.1021/acs.est.2c01867.
36. Hu M., Scott C. Toward the development of a molecular toolkit for the microbial remediation of per- and polyfluoroalkyl substances // *Applied and Environmental Microbiology*. 2024. Vol. 90, no. 4. P. e00157–e00124. DOI: 10.1128/aem.00157-24.
37. Yan P.-F., Dong S., Pennell K.D., Cápiro N.L. A review of the occurrence and microbial transformation of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in aqueous film-forming foams (AFFFs)-impacted environments // *Science of The Total Environment*. 2024. Vol. 927. P. 171883. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2024.171883.
38. Olaniran A.O., Pillay D., Pillay B. Biostimulation and bioaugmentation enhances aerobic biodegradation of dichloroethenes // *Chemosphere*. 2006. Vol. 63, no. 4. P. 600–608. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2005.08.027.
39. Willmann A., Trautmann A.L., Kushmaro A., Tiehm A. Intrinsic and bioaugmented aerobic trichloroethene degradation at seven sites // *Heliyon*. 2023. Vol. 9, no. 2. P. e13485. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e13485.
40. Bolan N., Sarkar B., Yan Y., Li Q., Wijesekara H., Kannan K., et al. Remediation of poly- and perfluoroalkyl substances (PFAS) contaminated soils – to mobilize or to immobilize or to degrade? // *Journal of Hazardous Materials*. 2021. Vol. 401. P. 123892. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.123892.
41. Yao S., Zhang H., Zhang J., Luo Y., Zhou Q., Kong M. Microbial adaptation and biodegradation mechanisms of perfluorinated compounds in different functional zones of the Yellow River Delta, China // *Process Safety and Environmental Protection*. 2024. Vol. 187. P. 1037–1046. DOI: 10.1016/j.psep.2024.04.142.
42. Zhao Y.X., Wang L., Chen K.X., Jiang N.D., Sun S.L., Ge F., et al. Biodegradation of flonicamid by *Ensifer adhaerens* CGMCC 6315 and enzymatic characterization of the nitrile hydratases involved // *Microbial Cell Factories*. 2021. Vol. 20. P. 133. DOI: 10.1186/s12934-021-01620-4.
43. Sota M., Endo M., Nitta K., Kawasaki H., Tsuda M. Characterization of a class II defective transposon carrying two haloacetate dehalogenase genes from *Delftia acidovorans* plasmid pU01 // *Applied and Environmental Microbiology*. 2002. Vol. 68, no. 5. P. 2307–2315. DOI: 10.1128/AEM.68.5.2307-2315.2002.
44. Calero P., Gurdo N., Pablo I. Role of the CrcB transporter of *Pseudomonas putida* in the multi-level stress response elicited by mineral fluoride // *Environmental Microbiology*. 2022. Vol. 24, no. 11. P. 5082–5104. DOI: 10.1111/1462-2920.16110.
45. Chulwoo P., Bora S., Park W. Protective role of bacterial alkanesulfonate monooxygenase under oxidative stress // *Applied and Environmental Microbiology*. 2020. Vol. 86, no. 15. P. e00692–e00720. DOI: 10.1128/AEM.00692-20.

REFERENCES

1. Stockholm convention secretariat. In: *Conference of the parties of the Stockholm convention on persistent organic pollutants on the work of its 4th meeting*. 4–8 May 2009, Geneva. Geneva: Stockholm Convention Secretariat; 2009, p. 66–69.
2. Leung S.C.E., Wanninayake D., Chen D., Nguyen N.-T., Li Q. Physicochemical properties and interactions of perfluoroalkyl substances (PFAS)-Challenges and opportunities in sensing and remediation. *Science of the Total Environment*. 2023;905:166764. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.166764.
3. Gaines L.G. Historical and current usage of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): a literature review. *American Journal of Industrial Medicine*. 2023;66(5):353–378. DOI: 10.1002/ajim.23362.
4. Kim D.-H., Lee H., Kim K., Kim S., Kim J.H., Ko Y.W., et al. Persistent organic pollutants in the Antarctic marine environment: the influence impacts of human activity, regulations, and climate change. *Environmental Pollution*. 2024;363(1):125100. DOI: 10.1016/j.envpol.2024.125100.
5. Kurwadkar S., Dane J., Kanel S.R., Nadagouda M.N., Cawdrey R.W., Ambade B., et al. Per- and polyfluoroalkyl substances in water and wastewater: a critical review of their global occurrence and distribution. *Science of the Total Environment*. 2022;809:151003. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.151003.

6. Fenton S.E., Ducatman A., Boobis A., DeWitt J.C., Lau C., Ng C., et al. Per- and polyfluoroalkyl substance toxicity and human health review: Current state of knowledge and strategies for informing future research. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2021;40(3):606-630. DOI: 10.1002/etc.4890.
7. Kabiri S., Navarro D.A., Hamad S.A., Grimison C., Higgins C.P., Mueller J.F., et al. Physical and chemical properties of carbon-based sorbents that affect the removal of per- and polyfluoroalkyl substances from solution and soil. *Science of the Total Environment*. 2023;875:162653. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.162653.
8. Nzeribe B.N., Crimi M., Mededovic Thagard S., Holsen T.M. Physico-chemical processes for the treatment of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2019;49(10):866-915. DOI: 10.1080/10643389.2018.1542916.
9. Zhou T., Li X., Liu H., Zhang Z., Wang Z., Li J., et al. Occurrence, fate, and remediation for per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in sewage sludge: a comprehensive review. *Journal of Hazardous Materials*. 2024;466:133637. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2024.133637.
10. Smorada C.M., Sima M.W., Jaffé P.R. Bacterial degradation of perfluoroalkyl acids. *Current Opinion in Biotechnology*. 2024;88:103170. DOI: 10.1016/j.copbio.2024.103170.
11. Huang S., Jaffé P. Defluorination of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) by *Acidimicrobium* sp. strain A6. *Environmental Science & Technology*. 2019;53(19):11410-11419. DOI: 10.1021/acs.est.9b04047.
12. Chetverikov S.P., Loginov O.N. A new *Ensifer adhaerens* strain M 1 is capable of transformation of perfluorocarboxylic acids. *Microbiology*. 2019;88(1):115-117. DOI: 10.1134/S0026261718060085. EDN: PMPMPI.
13. Sharipov D.A., Khudaigulov G.G., Starikov S.N., Chetverikov S.P. Defluorination of new organofluorine pollutants by microorganisms. *Natural and technical sciences*. 2023;9:10-13. (In Russian). DOI: 10.25633/ETN.2023.09.01. EDN: XRFCWC.
14. Chetverikov S., Hkudaigulov G., Sharipov D., Starikov S. Probable new species of bacteria of the genus *Pseudomonas* accelerates and enhances the destruction of perfluorocarboxylic acids. *Toxics*. 2024;12:930. DOI: 10.3390/toxics12120930.
15. Sambrook J., Russell D.W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform. *Cold Spring Harbor Protocols*. 2006;3:4455. DOI: 10.1101/pdb.prot4455.
16. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014;30(15):2114-2120. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170.
17. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A., Dvorkin M., Kulikov A.S., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of Computational Biology*. 2012;19:455-477. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.
18. Walker B.J., Abeel T., Shea T., Priest M., Abouelliel A., Sakthikumar S., et al. Pilon: an integrated tool for comprehensive microbial variant detection and genome assembly improvement. *PLoS One*. 2014;9:e112963. DOI: 10.1371/journal.pone.0112963.
19. Langmead B., Salzberg S.L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*. 2012;9:357-359. DOI: 10.1038/nmeth.1923.
20. Yoon S.-H., Ha S.-M., Lim J., Kwon S., Chun J. A large-scale evaluation of algorithms to calculate average nucleotide identity. *Antoine Van Leeuwenhoek*. 2017;110:1281-1286. DOI: 10.1007/s10482-017-0844-4.
21. Meier-Kolthoff J.P., Sardà Carbasse J., Peinado-Olarte R.L., Göker M. TYGS and LPSN: a database tandem for fast and reliable genome-based classification and nomenclature of prokaryotes. *Nucleic Acids Research*. 2022;50(D1):D801-D807. DOI: 10.1093/nar/gkab902.
22. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*. 2014;30:2068-2069. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu153.
23. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*. 1990;215:403-410. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.
24. Lefort V., Desper R., Gascuel O. FastME 2.0: a comprehensive, accurate, and fast distance-based phylogeny inference program. *Molecular Biology and Evolution*. 2015;32:2798-2800. DOI: 10.1093/molbev/msv150.
25. Farris J.S. Estimating phylogenetic trees from distance matrices. *American Naturalist*. 1972;6:645-667.
26. Letunic I., Bork P. Interactive Tree of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Research*. 2021;49:W293-W296. DOI: 10.1093/nar/gkab301.
27. Kanehisa M. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*. 2000;28(1):27-30. DOI: 10.1093/nar/28.1.27.
28. Raymond R.L. Microbial oxidation of *n*-paraffinic hydrocarbons. *Development Industrial Microbiology*. 1961;2(1):23-32.
29. Rankin K., Mabury S.A., Jenkins T.M., Washington J.W. A North American and global survey of perfluoroalkyl substances in surface soils: distribution patterns and mode of occurrence. *Chemosphere*. 2016;161:333-341. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.06.109.
30. Park J., Huang S., Koel B.E., Jaffé P.R. Enhanced Feammox activity and perfluorooctanoic acid (PFOA) degradation by *Acidimicrobium* sp. strain A6 using PAA-coated ferrihydrite as an electron acceptor. *Journal of Hazardous Materials*. 2023;459:132039. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2023.132039.
31. Ortega-Calvo J.J., Coulon F. *Soil remediation science and technology*. Cham: Springer; 2024, 437 p. DOI: 10.1007/978-3-031-60192-7.
32. Hassard F., Castro-Gutierrez V. Fundamental and practical advances in bioremediation of emerging pollutants as add-on treatments for polluted waters. *Frontiers in Microbiology*. 2024;15:1514698. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1514698.
33. Kognou A.L.M., Ngane R.A.N., Jiang Z.-H., Xu C.C., Qin W., Inui H. Harnessing the power of microbial consortia for the biodegradation of per- and polyfluoroalkyl substances: challenges and opportunities. *Chemosphere*. 2025;374:144221. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2025.144221.
34. Tripathi V., Edrisi S.A., Aloo B.N., Fraceto L.F., Srivastava V., Pant G. Environmental remediation strategies of new and emerging chemical contaminants. *Frontiers in Environmental Chemistry*. 2024;5:1500489. DOI: 10.3389/fenvc.2024.1500489.
35. Yang S.-H., Shan L., Chu K.-H. Fate and transformation of 6:2 fluorotelomer sulfonic acid affected by plant,

nutrient, bioaugmentation, and soil microbiome interactions. *Environmental Science & Technology*. 2022;56(15):10721-10731. DOI: 10.1021/acs.est.2c01867.

36. Hu M., Scott C. Toward the development of a molecular toolkit for the microbial remediation of per- and polyfluoroalkyl substances. *Applied and Environmental Microbiology*. 2024;90(4):e00157-e00124. DOI: 10.1128/aem.00157-24.

37. Yan P.-F., Dong S., Pennell K.D., Cápiro N.L. A review of the occurrence and microbial transformation of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in aqueous film-forming foams (AFFFs)-impacted environments. *Science of the Total Environment*. 2024. Vol. 927. P. 171883. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2024.171883.

38. Olaniran A.O., Pillay D., Pillay B. Biostimulation and bioaugmentation enhances aerobic biodegradation of dichloroethenes. *Chemosphere*. 2006;63(4):600-608. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2005.08.027.

39. Willmann A., Trautmann A.L., Kushmaro A., Tiehm A. Intrinsic and bioaugmented aerobic trichloroethene degradation at seven sites. *Heliyon*. 2023;9(2):e13485. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e13485.

40. Bolan N., Sarkar B., Yan Y., Li Q., Wijesekara H., Kannan K., et al. Remediation of poly- and perfluoroalkyl substances (PFAS) contaminated soils – to mobilize or to immobilize or to degrade? *Journal of Hazardous Materials*. 2021;401:123892. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.123892.

41. Yao S., Zhang H., Zhang J., Luo Y., Zhou Q., Kong M. Microbial adaptation and biodegradation mechanisms of perfluorinated compounds in different functional zones of the Yellow River Delta, China. *Process Safety and Environmental Protection*. 2024;187:1037-1046. DOI: 10.1016/j.psep.2024.04.142.

42. Zhao Y.X., Wang L., Chen K.X., Jiang N.D., Sun S.L., Ge F., et al. Biodegradation of flonicamid by *Ensifer adhaerens* CGMCC 6315 and enzymatic characterization of the nitrile hydratases involved. *Microbial Cell Factories*. 2021;20:133. DOI: 10.1186/s12934-021-01620-4.

43. Sota M., Endo M., Nitta K., Kawasaki H., Tsuda M. Characterization of a class II defective transposon carrying two haloacetate dehalogenase genes from *Delftia acidovorans* plasmid pUO1. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002;68(5):2307-2315. DOI: 10.1128/AEM.68.5.2307-2315.2002.

44. Calero P., Gurdo N., Pablo I. Role of the CrcB transporter of *Pseudomonas putida* in the multi-level stress response elicited by mineral fluoride. *Environmental Microbiology*. 2022;24(11):5082-5104. DOI: 10.1111/1462-2920.16110.

45. Chulwoo P., Bora S., Park W. Protective role of bacterial alkanesulfonate monooxygenase under oxidative stress. *Applied and Environmental Microbiology*. 2020;86(15):e00692-e00720. DOI: 10.1128/AEM.00692-20.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Стариков Сергей Николаевич,

младший научный сотрудник,
Уфимский институт биологии –
обособленное структурное подразделение
Уфимского федерального
исследовательского центра РАН,
450054, г. Уфа, пр. Октября, 69,
Российская Федерация,
✉ senik0406@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9681-5762>

Шарипов Данил Альмирович,

младший научный сотрудник,
Уфимский институт биологии –
обособленное структурное подразделение
Уфимского федерального
исследовательского центра РАН,
450054, г. Уфа, пр. Октября, 69,
Российская Федерация,
Male886@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5567-2902>

Четвериков Сергей Павлович,

д.б.н., заведующий лабораторией,
ведущий научный сотрудник,
Уфимский институт биологии –
обособленное структурное подразделение
Уфимского федерального
исследовательского центра РАН,
450054, г. Уфа, пр. Октября, 69,
Российская Федерация,
Che-kov@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7961-1503>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Sergei N. Starikov,

Junior Researcher,
Ufa Institute of Biology
of the Ufa Federal Research Center
of the Russian Academy of Sciences,
69, Oktyabrya Ave., Ufa, 450054,
Russian Federation,
✉ senik0406@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9681-5762>

Danil A. Sharipov,

Junior Researcher,
Ufa Institute of Biology
of the Ufa Federal Research Center
of the Russian Academy of Sciences,
69, Oktyabrya Ave., Ufa, 450054,
Russian Federation,
male886@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5567-2902>

Sergei P. Chetverikov,

Dr. Sci. (Biology), Head of the Laboratory,
Leading Researcher,
Ufa Institute of Biology
of the Ufa Federal Research Center
of the Russian Academy of Sciences,
69, Oktyabrya Ave., Ufa, 450054,
Russian Federation,
che-kov@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7961-1503>

Вклад авторов

С.Н. Стариков – формальный анализ, проведение исследования, валидация результатов, визуализация, написание черновика рукописи.
Д.А. Шарипов – проведение исследования, визуализация, редактирование рукописи.
С.П. Четвериков – разработка концепции, разработка методологии, курирование данных, получение финансирования, проведение исследования, административное руководство исследовательским проектом, научное руководство, редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 07.03.2025.
Одобрена после рецензирования 16.06.2025.
Принята к публикации 20.03.2026.

Contribution of the authors

Sergei N. Starikov – formal analysis, investigation, validation, visualization, writing – original draft.
Danil A. Sharipov – investigation, visualization, editing.
Sergei P. Chetverikov – conceptualization, methodology, data curation, funding acquisition, investigation, project administration, supervision, 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 07.03.2025.
Approved after reviewing 16.06.2025.
Accepted for publication 20.03.2026.

Научная статья
УДК 579.66:57.083.1
EDN: BBRHQX
DOI: 10.21285/achb.1029



Повышение активности штамма *Amycolatopsis orientalis* – продуцента антибиотика эремомицина и изучение его антибактериальной активности

А.С. Шibaева*, Е.В. Глаголева**, В.В. Джавахия*,**,
Т.М. Воинова***, В.В. Ядерец*

*Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Москва, Российская Федерация

**ООО «Иннагро», Москва, Российская Федерация

***Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии,
Большие Вяземы, Российская Федерация

Аннотация. Широкое применение антибиотиков в сельском хозяйстве сопряжено с возникновением новых вызовов, что определяет актуальность поиска и разработки эффективных антимикробных препаратов. Целью работы являлось получение нового высокопродуктивного штамма-продуцента гликопептидного антибиотика эремомицина и оценка антибактериальной активности частично очищенного препарата, выделенного из культуральной жидкости полученного штамма. Новый штамм *Amycolatopsis orientalis* E 27-22 получен сочетанием методов многоступенчатой селекции и ненаправленного ультрафиолетового мутагенеза. Упрощенное выделение препарата эремомицина осуществляли одноступенчатой сорбцией из фильтрата культуральной жидкости на макропористую смолу. Антибактериальную активность в отношении ряда грамположительных тест-культур (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium perfringens*) оценивали методами диффузии в агар и определения минимальных ингибирующих концентраций в сравнении с коммерческим ванкомицином и высокоочищенным эремомицином. Продуктивность нового штамма составила $4,51 \pm 0,23$ г/л, что на 31,87% превышает продуктивность исходного штамма *Amycolatopsis orientalis* ВКМ Ас-2717D. Содержание эремомицина в частично очищенном препарате достигло $70,0 \pm 2,0\%$ масс. Показано, что, несмотря на упрощенную технологию выделения, полученный препарат сохраняет высокую биологическую активность, уступая референсным антибиотикам не более чем в 2 раза, а в отношении *Micrococcus luteus* и *Clostridium perfringens* сопоставим с ванкомицином. Это подтверждает целесообразность дальнейшей разработки упрощенной технологии выделения для потенциального применения в сельском хозяйстве.

Ключевые слова: эремомицин, гликопептидный антибиотик, сельскохозяйственное животноводство, *Amycolatopsis orientalis*, ультрафиолетовый мутагенез, антибактериальная активность

Для цитирования: Шibaева А.С., Глаголева Е.В., Джавахия В.В., Воинова Т.М., Ядерец В.В. Повышение активности штамма *Amycolatopsis orientalis* – продуцента антибиотика эремомицина и изучение его антибактериальной активности // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 112–122. DOI: 10.21285/achb.1029. EDN: BBRHQX.

Enhancing the activity of *Amycolatopsis orientalis*, a producer of antibiotic eremomycin, and study of its antibacterial action

Aleksandra S. Shibaeva*✉, Elena V. Glagoleva**, Vakhtang V. Dzhavakhiya***, Tatiyana M. Voinova***, Vera V. Yaderets*

*Russian Biotechnological University (ROSBIOTECH), Moscow, Russian Federation

**LLC "Innagro", Moscow, Russian Federation

***All-Russian Research Institute of Phytopathology, Bolshie Vyazemy, Russian Federation

Abstract. The widespread use of antibiotics in agriculture is associated with emerging challenges, which underscores the relevance of searching for and developing effective antimicrobial agents. The aim of this work was to obtain a new highly productive strain producing the glycopeptide antibiotic eremomycin and to evaluate the antibacterial activity of a partially purified preparation isolated from the culture liquid of the obtained strain. A new strain – *Amycolatopsis orientalis* E 27-22 – was obtained through a combination of multistage selection and non-targeted ultraviolet mutagenesis. A simplified isolation of eremomycin was carried out by single-step sorption from the culture filtrate onto a macroporous resin. The antibacterial activity against a number of gram-positive test cultures (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium perfringens*) was evaluated using agar diffusion and minimum inhibitory concentration determination methods, in comparison with commercial vancomycin and highly purified eremomycin. The productivity of the new strain ranged 4.51 ± 0.23 g/L, which is 31.87% higher than that of the parent strain *Amycolatopsis orientalis* VKM Ac-2717D. The eremomycin content in the partially purified preparation reached 70.0 ± 2.0 wt%. Despite the simplified isolation technology, the obtained preparation was shown to retain high biological activity, being no more than twofold less active than the reference antibiotics, and comparable to vancomycin against *Micrococcus luteus* and *Clostridium perfringens*. The results obtained confirm the feasibility of further development of a simplified isolation process for potential application in agriculture.

Keywords: eremomycin, glycopeptide antibiotic, agricultural livestock production, *Amycolatopsis orientalis*, ultraviolet mutagenesis, antibacterial activity

For citation: Shibaeva A.S., Glagoleva E.V., Dzhavakhiya V.V., Voinova T.M., Yaderets V.V. Enhancing the activity of *Amycolatopsis orientalis*, a producer of antibiotic eremomycin, and study of its antibacterial action. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):112-122. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1029. EDN: BBRHQX.

ВВЕДЕНИЕ

Антибиотики играют ключевую роль в современном животноводстве, обеспечивая профилактику и лечение инфекционных заболеваний у сельскохозяйственных животных. Использование антибиотиков позволяет увеличить продуктивность животных, снизить уровень смертности и обеспечить высокое качество продукции. Однако массовое и часто необоснованное применение антибиотиков в этой сфере создало серьезные проблемы, среди которых особое внимание привлекает быстрое распространение генов устойчивости к антимикробным препаратам. Это создает угрозу для здоровья человека, так как устойчивые штаммы патогенов могут передаваться от животных к людям через продукты питания или прямой контакт. В этой связи продолжается активный поиск новых антимикробных средств, которые обладали бы высокой эффективностью, минимальной токсичностью и меньшей склонностью к провоцированию устойчивости у микроорганизмов [1–5].

Среди представленных на рынке антибиотиков клинически важной группой являются гликопептиды [6, 7].

Одним из перспективных кандидатов для применения в сельском хозяйстве считается представитель этой группы – антибиотик эремомицин, метаболит актиномицета *Amycolatopsis orientalis*, выделенный в Научно-исследовательском институте по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе (г. Москва, Россия) [8]. Эремомицин относится к препаратам ванкомициновой группы, в которую входят такие антибиотики, как ванкомицин, тейкопланин, авопарицин, ристоцетин и др. [6, 7]. Спектр активности антибиотиков этой группы охватывает широкий круг грамположительных бактерий, включая следующие клинически значимые виды: *Staphylococcus aureus* (в том числе MRSA, от англ.: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* – метициллин-резистентный золотистый стафилококк), *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus* spp., *Clostridium difficile*, *Listeria monocytogenes* и *Corynebacterium* spp. [1]. Однако все чаще встречаются штаммы, в том числе MRSA и VRE (от англ.: vancomycin-resistant *Enterococcus* – ванкомицин-резистентные энтерококки), с повышенной устойчивостью к ванкомицину [1, 9, 10].

Для предотвращения дальнейшего распространения резистентности использование ряда антибиотиков в сельском хозяйстве запрещено во многих странах, в том числе антибиотика авопарицина, структурного аналога ванкомицина [9, 10].

В сравнении с ванкомицином эремомицин обладает рядом преимуществ, среди которых более высокая активность в отношении грамположительных возбудителей, включая стафилококки, стрептококки и клостридии [8, 11–14]. Кроме того, установлено, что эремомицин характеризуется более низкой токсичностью, снижает вероятность рецидивов и вызывает меньше побочных реакций по сравнению с терапией ванкомицином [14]. Сладковатый вкус эремомицина способствует снижению риска тошноты и отказа от корма у животных при его пероральном применении [12]. Эремомицин практически не всасывается из желудочно-кишечного тракта и остается в просвете кишечника, обеспечивая локальное антимикробное действие, что особенно актуально для лечения кишечных инфекций [12]. Это также предотвращает его накопление в тканях и снижает риск попадания остаточных количеств антибиотика в мясо и, соответственно, в пищевые продукты.

Благодаря своим преимуществам и отсутствию в перечне жизненно важных медицинских препаратов, эремомицин представляет интерес для применения в сельскохозяйственном животноводстве. Для создания готового препарата на его основе необходимо получить высокопродуктивный штамм-продуцент, оптимизировать условия культивирования, разработать удобную и стабильную форму препарата. В связи с этим целью работы являлось получение штамма-продуцента гликопептидного антибиотика эремомицина, а также оценка антибактериальной активности частично очищенного эремомицина, сконцентрированного из культуральной жидкости методом одноступенчатой сорбции на адсорбционной смоле, в сравнении с высокоочищенными препаратами ванкомицина и эремомицина.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Рабочий штамм-продуцент *Amycolatopsis orientalis* E 27-22 получен сочетанием методов многоступенчатой селекции и ненаправленного индуцированного ультрафиолетового (УФ) мутагенеза из штамма *Amycolatopsis orientalis* ВКМ Ac-2717D [15, 16]. В качестве тест-культур для определения антибактериальной активности были использованы штаммы *Clostridium perfringens* ATCC 13124, *Staphylococcus aureus* ATCC 35591, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Micrococcus luteus* B-7845, *Bacillus subtilis* 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922.

Поддержание рабочего штамма *A. orientalis* E 27-22 осуществлялось на агаризованной среде следующего состава, г/л: соевая мука – 1, дрожжевой экстракт – 5, глицерин – 20, крахмал – 10, CaCO_3 – 1, MgSO_4 – 1, K_2HPO_4 – 0,5, агар – 15; stock solution (FeSO_4 , MnCl_2 , CuCl_2 , ZnSO_4) – 100 мкл/л, pH 7,0. Тест-культура *C. perfringens* поддерживалась на среде Китта – Тароцци (г. Оболенск, Россия) в анаэробных условиях. Аэробные тест-культуры поддерживались на среде LB (триптон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, NaCl – 10 г/л). Посевной материал выращивали в течение 3 суток на качалочной установке (амплитуда 5 см, 250 об/мин, 28 °C) в колбах Эрленмейера объемом 0,5 л, содержащих 0,1 л питательной

среды следующего состава, г/л: глицерин – 30, соевая мука – 5, пептон – 5, дрожжевой экстракт – 1, KNO_3 – 3, MgCl_2 – 1; pH 6,5. Затем 10% (об/об.) посевного материала вносили в ферментационную среду состава, г/л: глицерин – 80, соевая мука – 20, сухое обезжиренное молоко – 3, дрожжевой экстракт – 2, мясной пептон – 5, MgCl_2 – 1, KNO_3 – 6, CaCl_2 – 3, CuSO_4 – 0,1, MgSO_4 – 0,1, KH_2PO_4 – 0,2; pH – 7,0. Культивирование проводили в тех же условиях в течение 8 суток.

Генетическую идентификацию исходного и мутантного штамма осуществляли путем секвенирования и анализа нуклеотидных последовательностей фрагментов гена 16S. Выделение ДНК осуществляли согласно методике, описанной в работе [17]. Амплификацию фрагментов гена 16S рРНК проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием универсальных праймеров 11F и 1492R. Секвенирование полученных ПЦР-фрагментов генов, кодирующих 16S рРНК, проводили по методу Сэнгера с помощью набора реактивов Big Dye Terminator v.3.1 (Applied Biosystems, США) на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems, США) согласно инструкциям производителя. Для секвенирования использовали вышеупомянутые праймеры, считывание проводили в двух направлениях. Первичный анализ сходства нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК изучаемых штаммов проводили с помощью программного пакета BLAST. Штаммы идентифицированы в Центре коллективного пользования «Биоинженерия» Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН (г. Москва, Россия).

Для проведения УФ-мутагенеза выполняли смыв мицелия культуры с поверхности агара стерильной дистиллированной водой и фильтровали через стерильный ватный фильтр. Затем проводили подсчет клеток и обрывков мицелия с помощью камеры Горяева и готовили необходимые разведения. В качестве контроля часть суспензии высевалась до облучения на агар. Клеточную суспензию обрабатывали УФ-лучами с длиной волны 280 нм (эксимерная лампа XeBr, модель BD_P, мощность 12,5 Вт) и высевали на агар для инкубации в течение 7–10 суток. Отобранные колонии культивировали глубинным способом в течение 8 суток.

Количественное содержание эремомицина в культуральной жидкости определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ-УФ). Пробоподготовка включала в себя экстракцию культуральной жидкости водным буфером 0,25 М $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ pH 8,0 в соотношении 1:4. Условия проведения ВЭЖХ-анализа указаны в табл. 1.

Эремомицин сорбировали из супернатанта культуральной жидкости на макропористую адсорбционную смолу D101 (Henan Hailan New Material Co., Китай) из расчета 40 мл смолы на 1 г эремомицина. После 1,5 ч перемешивания и подтверждения полноты сорбции методом ВЭЖХ смолу промывали водой. Элюирование осуществляли водным раствором, содержащим 6% изопропанола и 0,6% уксусной кислоты (3 объема на 1 объем смолы), в течение 1,5 ч. Собранный элюат упаривали под вакуумом (25–30 °C) до удаления изопропанола, нейтрализовали до pH 5–6 и лиофилизировали. Содержание эремомицина в конечном продукте составило $70,0 \pm 2,0\%$.

Таблица 1. Условия хроматографического анализа

Table 1. Chromatographic conditions

Параметр	Значение
Хроматографическая система	Agilent Technologies
Неподвижная фаза	Phenomex C18 (200 мм × 4,6 мм, 5 μм)
Элюент	30:70 метанол, буфер 0,25 М (NH ₄) ₂ HPO ₄ pH 8
Длина волны	280 нм
Температура	50 °С
Скорость потока	0,7 мл/мин
Режим	изократический

Оценка чувствительности тест-культур к полученному образцу проводилась методом диффузии вещества в агар [18]. В качестве антибиотиков сравнения был использован ванкомицин гидрохлорид (Sigma, чистота более 90%) и эремомицин сульфат (чистота более 90%, получен из штамма *Amycolatopsis orientalis* ВКМ Ac-2717D на опытно-промышленной установке, выделенный и очищенный согласно условиям патента [16]). В остывший агар (50 °С) вносили бактериальную суспензию, приготовленную из суточной тест-культуры по стандарту мутности МакФарланда № 1 в количестве 1 мл на 100 мл среды, перемешивали, разливали на чашки Петри. В застывшем агаре вырезали лунки диаметром 0,5 см, в которые вносили по 100 мкл растворов антибиотиков и дистиллированную стерильную воду в качестве контроля. Чашки инкубировали в течение 1–2 суток. Для *C. perfringens* был использован агар для бруцелл (Brucella Agar, Condalab, Испания) с добавлением 5 мг/л гемина, 1 мг/л витамина К₁ и 5% бараньей крови (Brucella Agar, Condalab, Испания).

Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) определяли при помощи колориметрического теста для оценки метаболической активности клеток (МТТ-теста) в круглодонных 96-луночных микробиологических планшетах с использованием жидких питательных сред: бульон для бруцелл с добавлением 5 мг/л гемина, 1 мг/л витамина К₁ и 5% лошадиной крови (Brucella Broth, Condalab, Испания) для *C. perfringens* и LB для аэробных тест-культур. Бактериальную клеточную суспензию тест-культуры вносили в лунки, заполненные питательной средой, в количестве 10%. Далее в первые лунки вносили антибиотики и готовили серию из семи последовательных двукратных разведений в диапазоне концентраций от 100 до 0,78 мкг/мл. Планшеты выдерживали при температуре 37 °С в термостате в течение 24 ч. Анаэробные культуры культивировались в анаэроустате. В каждую лунку добавляли реагент МТТ (1 мг/мл) в стерильном фосфатно-солевом буферном растворе (PBS). Планшеты инкубировали еще в течение 2–4 ч при температуре 37 °С. Среду удаляли, а внутриклеточный препарат формазан растворяли в 100 мкл диметилсульфоксида. Оптическую плотность измеряли при длине волны 555 нм с помощью планшетного ридера (Thermo Scientific Multiskan FC, США).

Статистический анализ выполняли в программе MS Excel. Оценка достоверности различий между выборками проводили с использованием t-критерия Стьюдента с последующим применением метода наименьшей суще-

ственной разницы. Порог статистической значимости был установлен на уровне 5% ($p < 0,05$). Результаты получены как минимум в трех независимых экспериментах.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Представители рода *Amycolatopsis* уже известны как продуценты эремомицина. Первым описанным продуцентом стал штамм *Nocardia orientalis* (*Amycolatopsis orientalis*) ИНА-238, выделенный из почвы и обладавший низкой продуктивностью – 150 мг/л [19]. В результате воздействия химических мутагенов и гамма-лучей на штамм 238 был получен штамм *Amycolatopsis orientalis* subsp. *eremomycin* ВКПМ-s892 с более высокой продуктивностью – 1,8 г/л [13]. Следующим был получен штамм *A. orientalis* ВКПМ-AC807 с продуктивностью 2,3 г/л эремомицина [20]. Самая высокая продуктивность была достигнута в работе [15] методом ненаправленного индуцированного УФ-мутагенеза коллекционного штамма *A. orientalis* ВКПМ Ac-1125 и оптимизацией условий культивирования полученного штамма-продуцента *A. orientalis* ВКМ Ac-2717D, продуктивность которого по эремомицину составляла 3,42±0,17 г/л.

Первоначальная задача этой работы заключалась в создании нового более продуктивного штамма-продуцента. Для данной работы был выбран штамм *A. orientalis* ВКМ Ac-2717D [15, 16] с целью дальнейшего повышения его продуктивности методом УФ-мутагенеза. Этот метод позволяет получать клетки с повышенной способностью к синтезу целевого продукта за счет внесения изменений в нуклеотидную последовательность ДНК путем обработки клеток УФ-лучами. Известны работы, в которых высокая степень продуктивности продуцента достигалась сочетанием мутагенеза с оптимизацией состава питательной среды [21, 22]. В качестве источника УФ-излучения выбрана эксимерная лампа XeBr модели BD_P с длиной волны 282 нм [23].

Время облучения подбирали путем построения корреляционных зависимостей времени облучения от выживаемости и количества мутантных колоний (рис. 1). Исходя из полученной зависимости, время облучения зафиксировали на 15 мин, а расстояние от лампы – на 40 см, так как более короткое расстояние имело следствием низкую степень выживаемости клеток – на уровне 0,02%. Выбранные условия мутагенеза обеспечили выживаемость на уровне 0,10–0,15% и 34% колоний с измененной морфологией, что было достаточным для выполнения эксперимента.

Исходный штамм имел бежевый оттенок колоний, среднюю плотность мицелия, рост в течение 5–7 суток без спороношения. Отобранные мутантные колонии отличались по макроморфологическим признакам (цвет мицелия, степень его плотности и опушения) и по скорости роста. Преимущественно лучшей продуктивностью обладали мутантные колонии бежевого цвета с низкой плотностью мицелия и ростом до 7 суток (табл. 2). Исходный штамм и все полученные изоляты имели схожие микроскопические характеристики: гифы мицелия прямые или слегка извилистые, распа- дающиеся на фрагменты различной длины (рис. 2). В результате был выбран наиболее стабильный и продуктивный изолят, которому присвоен внутрिलाбораторный идентификационный номер E 27-22. Продуктивность нового мутантного штамма составила 4,51±0,23 г/л.

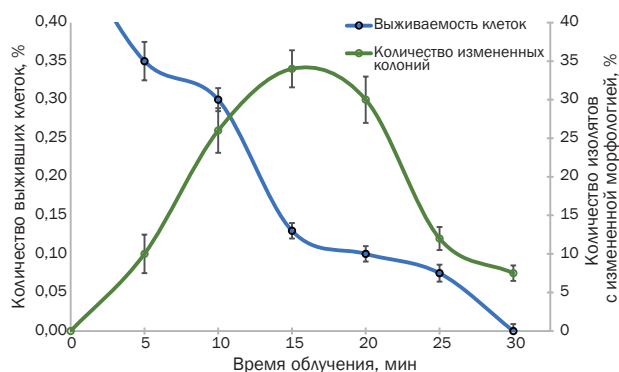


Рис. 1. Зависимость времени облучения от выживаемости и количества мутантных колоний (доверительные интервалы рассчитаны с использованием выборочного стандартного отклонения и t-распределения для 95%-го уровня доверия)

Fig. 1. Dependence of irradiation time on survival rate and number of mutant colonies (confidence intervals were calculated using the sample standard deviation and the t-distribution for a 95% confidence level)

Таблица 2. Сравнение характеристик различных типов изолятов и их продуктивности

Table 2. Comparison of characteristics of different isolate types and their productivity

Характеристика типов изолятов, полученных после мутагенеза	Средняя продуктивность по эремомицину, г/л
Бежевый цвет, средняя плотность мицелия, рост в течение 5–7 сут.	3,94±0,51
Бежевый цвет, средняя плотность мицелия, рост в течение 7–10 сут.	4,23±0,16
Светло-бежевый/почти белый цвет, воздушный мицелий, рост в течение 5–7 сут.	3,50±0,20
Бежевый цвет, низкая плотность мицелия, рост в течение 5–7 сут.	4,51±0,23

С целью генетической идентификации полученного мутантного штамма Е 27-22 проведено секвенирование исходного и полученного штаммов. Определена практически полная последовательность (1406 нуклеотидов) бактериального компонента амплификата гена, кодирующего 16S рРНК. Архейных, а также минорных компонентов ДНК для данных образцов выявлено не было. Нуклеотидные последовательности ПЦР-фрагментов для обоих образцов Е 27-22 и ВКМ Ас-2717D оказались идентичными между собой. Филогенетически наиболее близкими к исследованным образцам Е 27-22 и ВКМ Ас-2717D среди описанных бактерий были виды *A. thailandensis* strain CMU-PLA07 (NR_116731), *A. coloradensis* strain DSM 44225 (NR_114859), *A. umgeniensis* strain UM16 (NR_115688), *A. alba* strain DSM 44262 (NR_024888), *A. orientalis* strain 14143 (NR_042104.1) и *A. orientalis* strain IMSNU 20058 (NR_042104). Обнаруженный уровень сходства последовательностей 16S рРНК позволяет отнести изучаемые образцы Е 27-22 и ВКМ Ас-2717D к роду *Amycolatopsis* [24].

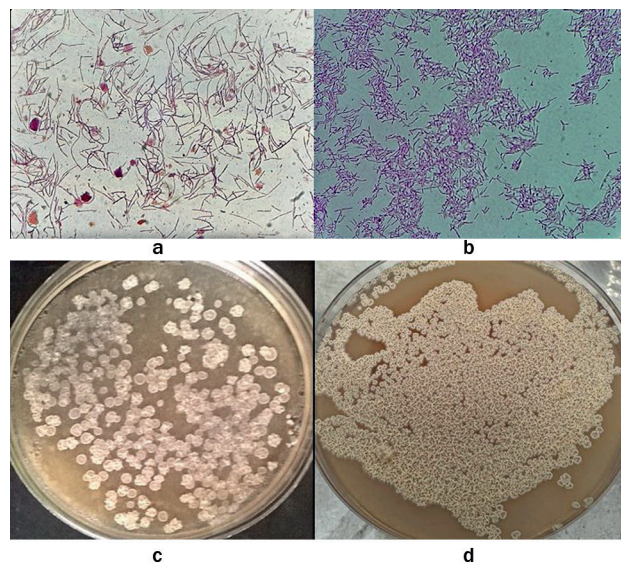


Рис. 2. Морфология исходного и нового штаммов *Amycolatopsis orientalis*: а, б – фиксированные мазки культуры, окрашенные по Граму, на 7-е сутки ферментации (увеличение 1000×, масляная иммерсия (исходный штамм (а) и новый штамм (б)); с, d – колонии, выросшие на питательном агаре (исходный штамм (с) и новый штамм (d))

Fig. 2. Morphology of the original and new *Amycolatopsis orientalis* strains: а, б – fixed Gram-stained smears of the culture on day 7 of fermentation (1000× total magnification, oil immersion objective) (the original strain (а) and the new strain (б)); с, d – colonies grown on nutrient agar (the original strain (с) and the new strain (d))

Из полученной в колбах культуральной жидкости получили образец с содержанием эремомицина $70,0 \pm 2,0\%$ по массе. При выделении использовали принцип, описанный для ванкомицина в патенте [25]. Полученный препарат использовали для оценки возможности упрощения технологии выделения и очистки эремомицина и сравнения его антибактериальной активности со стандартами антибиотиков.

Степень чувствительности тест-культур к исследуемым антибиотикам определяли методом диффузии в агар. В экспериментах с анаэробной культурой *Clostridium perfringens* растворы всех образцов готовили в концентрациях 0,05 и 0,005%. При более высокой концентрации (0,05%) зоны подавления роста вокруг лунок с ванкомицином и эремомицином были сопоставимы. Однако при снижении концентрации до 0,005% диаметр зоны подавления роста под действием эремомицина превышал таковой для ванкомицина как визуально, так и численно. Зона подавления роста, обусловленная исследуемым препаратом, в среднем была на 20% меньше по сравнению с референтными препаратами. Диаметры зон подавления роста представлены в табл. 3.

Аналогичный эксперимент был проведен в отношении аэробных тест-культур *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus*, *B. subtilis*, *E. coli*. Концентрации растворов составляли 0,05, 0,01 и 0,005 %. Активности субстанций в отношении всех тест-культур оказались сопоставимы, за исключением граммотрицательной

тест-культуры *E. coli*, к которой антибиотики данной группы активности не проявляют. Активность исследуемого препарата в концентрации 0,05% соотносилась с активностью 0,005% растворов ванкомицина и эремомицина в отношении тест-штаммов *M. luteus*, *B. subtilis* и 0,005–0,01% растворов в отношении *S. aureus*, *S. epidermidis* (рис. 3).

Результаты определения МИК исследуемого препарата и антибиотиков сравнения с использованием МТТ-теста представлены в табл. 4. Диапазон иссле-

Таблица 3. Диаметры зон подавления роста *Clostridium perfringens*

Table 3. Diameters of growth suppression zones *Clostridium perfringens*

Концентрация раствора антибиотика, %	Диаметр зоны подавления роста, мм		
	Ванкомицин	Эремомицин	Исследуемый препарат
0,005	26±2	29±2	22±2
0,050	36±1	35±1	29±2

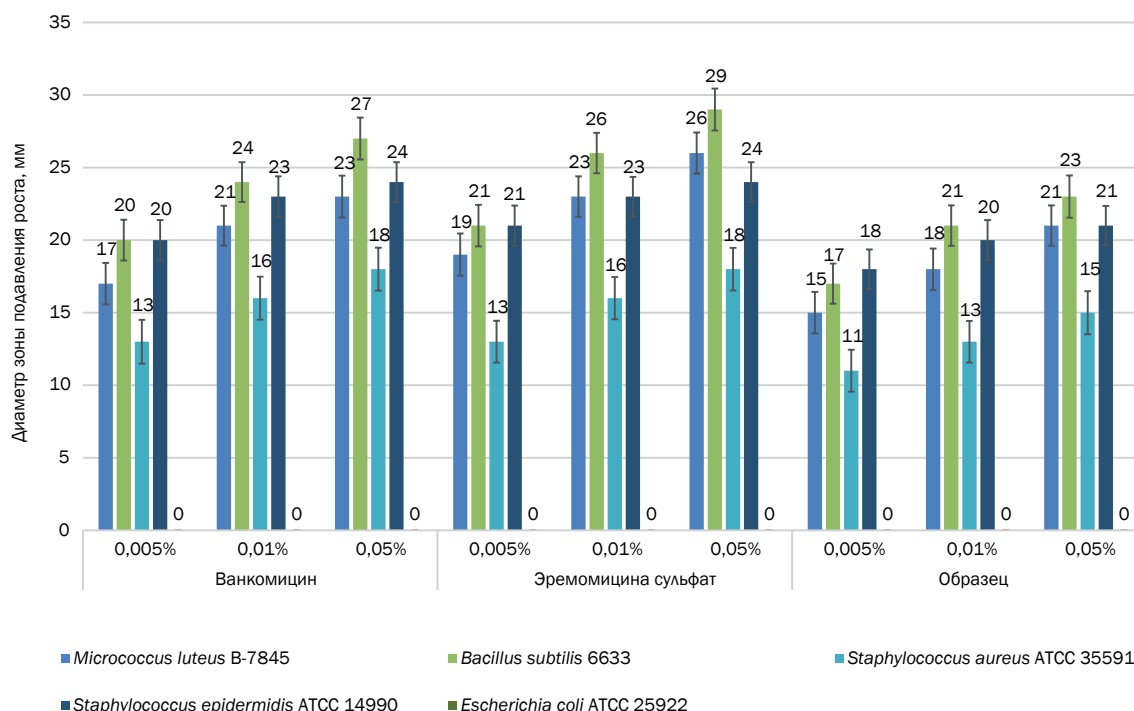


Рис. 3. Сравнительная диаграмма диаметров зон подавления роста тест-культур ванкомицином, эремомицином и образцом в различных концентрациях (доверительные интервалы рассчитаны с использованием выборочного стандартного отклонения и t-распределения для 95%-го уровня доверия)

Fig. 3. Comparative chart of the inhibition zone diameters of test cultures exposed to vancomycin, eremomycin, and the sample at different concentrations (confidence intervals were calculated using the sample standard deviation and t-distribution at a 95% confidence level)

Таблица 4. Сравнение экспериментальных и литературных минимальных ингибирующих концентраций образцов

Table 4. Comparison of experimental and literary minimum inhibitory concentrations of samples

Тест-культура	Ванкомицин		Эремомицин		Исследуемый препарат
	Опыт	Литературные данные	Опыт	Литературные данные	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,56	До 8 мкг/мл (включая штаммы со сниженной чувствительностью) [1, 26–28]	1,56	До 4 мкг/мл (включая штаммы со сниженной чувствительностью) [26, 27]	3,13
<i>Bacillus subtilis</i>	1,56	До 5 мкг/мл (чувствительные и менее чувствительные штаммы) [29]	0,78	Нет данных	1,56
<i>Micrococcus luteus</i>	3,13	Нет данных (чувствителен) [30]	1,56	Нет данных (чувствителен)	3,13
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3,13	Менее 4 мкг/мл (чувствительные штаммы) [26, 31]	3,13	Нет данных (чувствителен) [26]	6,25
<i>Clostridium perfringens</i>	1,56	До 2 мкг/мл (для чувствительных штаммов) [32]	0,78	Нет данных	1,56

двух концентраций составил от 100 до 0,78 мкг/мл. Минимальные ингибирующие концентрации субстанций ванкомицина и эремомицина близки в отношении всех тест-культур, но наибольшая антибактериальная активность отмечена для эремомицина. Такая тенденция соответствует имеющимся в литературе данным, но значения МИК как ванкомицина, так и эремомицина для указанных культур, определенные в *in vitro* тестах, разнятся в зависимости от штамма, метода исследования и других факторов, некоторые данные отсутствуют (см. табл. 4).

Сравнение антибактериальной активности показало, что исследуемый препарат в целом уступал высокоочищенному эремомицину, демонстрируя значения МИК в среднем в 2 раза выше. Исключение составили штаммы *M. luteus* и *C. perfringens*, в отношении которых активность исследуемого препарата была эквивалентна активности ванкомицина несмотря на разницу в чистоте препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования были сделаны следующие выводы:

1. Полученный новый штамм-продуцент *A. orientalis* E 27-22 обеспечивает накопление эремомицина в культуральной жидкости до $4,51 \pm 0,23$ г/л, что на 31,87% превышает продуктивность исходного штамма.

2. Активность частично очищенного эремомицина, выделенного из культуральной жидкости нового штамма, уступала активности субстанции эремомицина не более чем в 2 раза для всех тест-культур. Такое снижение активности закономерно и объясняется более низкой степенью очистки образца.

3. Для тест-культур *M. luteus* и *C. perfringens* МИК ванкомицина и исследуемого препарата оказались сопоставимы, в остальных случаях МИК препарата превышали значения для ванкомицина в 2 раза.

Приведенные данные могут быть использованы при создании рентабельной технологической схемы производства препарата.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Panditharathne P.N.K.W., Kumbukgolla W.W., Jayaweera J.A.A.S., Rawat D.S. Review on usage of vancomycin in livestock and humans: maintaining its efficacy, prevention of resistance and alternative therapy // Veterinary Sciences. 2017. Vol. 4, no. 1. P. 6. DOI: 10.3390/vetsci4010006.
2. Mann A., Nehra K., Rana J.S., Dahiya T. Antibiotic resistance in agriculture: perspectives on upcoming strategies to overcome upsurge in resistance // Current Research in Microbial Sciences. 2021. Vol. 2. P. 100030. DOI: 10.1016/j.crmicr.2021.100030.
3. Sazykin I.S., Khmelevtsova L.E., Seliverstova E.Y., Sazykina M.A. Effect of antibiotics used in animal husbandry on the distribution of bacterial drug resistance (review) // Applied Biochemistry and Microbiology. 2021. Vol. 57, no. 1. P. 20–30. DOI: 10.1134/S0003683821010166.
4. Low C.X., Tan L.T.-H., Mutalib N.-S.A., Pusparajah P., Letchumanan V., Lee L.-H., et al. Unveiling the impact of antibiotics and alternative methods for animal husbandry: a review // Antibiotics. 2021. Vol. 10, no. 5. P. 578. DOI: 10.3390/antibiotics10050578.
5. Самарин Г.Н., Беляков М.В., Ляшук Ю.О. Актуальные тенденции применения антимикробных препаратов в сельском хозяйстве // Отходы и ресурсы. 2023. Т. 10. N 1. С. 20. DOI: 10.15862/22ECOR123. EDN: LONKRL.
6. Высочанская О.Н., Кулешова С.И., Симонова Е.П. Гликопептидные антибиотики: структурно-функциональные аспекты, применение в медицине и стандартизация // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2023. Т. 13. N 2-1. С. 261–270. DOI: 10.30895/1991-2919-2022-447.
7. Kisil O.V., Efimenko T.A., Efremenkova O.V. Looking back to Amycolatopsis: history of the antibiotic discovery and future prospects // Antibiotics. 2021. Vol. 10. P. 1254. DOI: 10.3390/antibiotics10101254.
8. Gause G.F., Brazhnikova M.G., Lomakina N.N., Berdnikova T.F., Fedorova G.B., Tokareva N.L., et al. Eremomycin-new glycopeptide antibiotic: chemical properties and structure // Journal of Antibiotics. 1989. Vol. 42, no. 12. P. 1790–1799. DOI: 10.7164/antibiotics.42.1790.
9. Park S., Ronholm J. *Staphylococcus aureus* in agriculture: lessons in evolution from a multispecies pathogen // Clinical Microbiology Reviews. 2021. Vol. 34, no. 2. P. e00182–e00220. DOI: 10.1128/CMR.00182-20.
10. Кисиль О.В., Габриэлян Н.И., Малеев В.В. Устойчивость к антибиотикам – что можно сделать? // Терапевтический архив. 2023. Т. 95. N 1. С. 90–95. DOI: 10.26442/00403660.2023.01.202040. EDN: CZDJLC.
11. Малкова И.В., Борисова О.К., Павлова М.В., Земляничная Е.П., Сергеева Т.И. Активность *in vitro* нового гликопептидного антибиотика эремомицина в отношении облигатных анаэробных грамположительных бактерий // Антибиотики и химиотерапия. 1991. Т. 36. N 4. С. 17–20.
12. Пат. № 2661613, Российская Федерация, С1 А61К 35/66 А61Р 31/04. Способ лечения заболеваний человека, вызванных грамположительными бактериями / И.О. Рыжков, М.Ю. Самсонов, М.Г. Чернобровкин, Д.Л. Шоболов. Заявл. 01.11.2017; опубл. 17.07.2018. Бюл. № 20.
13. Пат. № 2110578, Российская Федерация, С12 Р 1/06, С12 N 1/00, 1/02, А61 К35/66. Штамм *Amycolatopsis orientalis* subsp. *eremomycini* ВКПМ S-892 – продуцент антибиотика эремомицина и способ получения антибиотика эремомицина / М.Г. Бражникова, А.В. Лайко, Г.Б. Федорова, Т.П. Преображенская, М.А. Свешникова, О.А. Лапчинская [и др.]. Заявл. 18.06.1997; опубл. 10.05.1998.
14. Гольденберг Л.Е., Степанова Е.С., Ветроградова Т.П., Шевчук Л.А., Шепелевцева Н.Г. Доклиническое токсикологическое изучение нового антибиотика эремомицина. Острая токсичность для лабораторных животных // Антибиотики и биотехнологии. 1987. Т. 32. N 12. С. 910–915.
15. Джавахия В.В., Глаголева Е.В., Попова Е.Д., Овчинников А.И., Скрябин К.Г., Шоболов Д.Л. [и др.]. Разработка нового высокопродуктивного штамма *Amycolatopsis orientalis* – продуцента антибиотика эремомицина // Биотехнология. 2017. Т. 33. N 1. С. 42–52. DOI: 10.1016/0234-2758-2017-33-1-42-52. EDN: YNTLXT.
16. Пат. № 2621866, Российская Федерация, С12Р 1/06 С12Н 1/20 А61К 35/66 С12Р 1/01. Штамм *Amycol-*

atopsis orientalis – продуцент антибиотика эремомоцина и способ получения эремомоцина / В.В. Джавахия, Е.В. Глаголева, Т.М. Воинова, Е.Д. Попова, А.И. Овчинников, Д.Л. Шоболов [и др.]. Заявл. 12.04.2016; опубл. 07.06.2017. Бюл. № 16.

17. Булыгина Е.С., Кузнецов Б.Б., Марусина А.И., Кравченко И.К., Быкова С.А., Колганова Т.В. [и др.]. Изучение нуклеотидных последовательностей *pnfH* генов у представителей метанотрофных бактерий // Микробиология. 2002. Т. 71. N 4. С. 500–508.

18. Шахова Д., Каночкина М.С. Перспективы и особенности применения метода турбидиметрического анализа для определения антимикробной активности пептидов и антибиотиков гликопептидного ряда (систематический обзор предметного поля) // Health, Food & Biotechnology. 2024. Т. 6. N 4. С. 73–93. DOI: 10.36107/hfb.2024.i4.s242. EDN: IDWVZE.

19. Пат. № 1475150, СССР, С 12 N 1/00. Антибиотик «Эремомоцин» и способ его получения / Г.Ф. Гаузе, Т.П. Преображенская, А.В. Лайко, Т.И. Селезнева, М.А. Свешникова, М.Г. Бражникова [и др.]. Заявл. 06.02.1981; опубл. 27.05.1997.

20. Пат. № 2352631, Российская Федерация, С12N 1/20, С12R 1/01, С12P 1/06. Штамм *Amycolatopsis orientalis* ВКПМ-Ас-807 – продуцент эремомоцина / О.А. Лапчинская, Г.Б. Федорова, В.В. Погожева, М.Н. Преображенская, Г.С. Катруха, В.И. Пономаренко [и др.]. Заявл. 26.03.2007; опубл. 20.04.2009. Бюл. № 11.

21. Irianto V.S., Demirkan E., Cetinkaya A. A. UV-mutagenesis for lipase overproduction from *Bacillus cereus* ATA179, nutritional optimization, characterization and its usability in the detergent industry // Preparative Biochemistry & Biotechnology. 2023. Vol. 54, no. 7. P. 918–931. DOI: 10.1080/10826068.2023.2299441.

22. Ядерец В.В., Карпова Н.В., Глаголева Е.В., Петрова К.С., Шибаета А.С., Джавахия В.В. Каротиноиды: обзор основных биотехнологических способов и условий получения // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2024. Т. 14. N 1. С. 41–54. DOI: 10.21285/achb.905. EDN: LQHTED.

23. Zhu Q., Han Q., Zhang S. The ultraviolet-b radiation characteristics of planar excilamps filled with gas mixture of xenon, bromine and chlorine // Plasma Chemistry and Plasma Processing. 2024. Vol. 44. P. 523–546. DOI: 10.1007/s11090-023-10428-6.

24. Stackebrandt E., Ebers J. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards // Microbiology Today. 2006. Vol. 8, no. 4. P. 152–155.

25. Пат. № 2788348, Российская Федерация, С12N 1/20 С12R 1/01 А61Р 31/04. Новый штамм-продуцент ванкомицина *Amycolatopsis japonica* / П.А. Белый, Э.Ю. Лопатухин, К.Я. Заславская, С.В. Федоров, Д.Н. Земсков, Д.Н. Нигматова Заявл. 28.11.2022; опубл. 17.01.2023. Бюл. № 2.

26. Пат. № 2708628, Российская Федерация, С07K 9/00, А61К 38/14, А61Р 31/04. Новые производные эремомоцина и их применение для лечения бактериальных инфекций / А.Е. Щекотихин, Е.И. Моисеенко, А.М. Королёв, Н.Э. Грамматикова, Е.П. Мирчинк, Е.Б. Исакова. Заявл. 23.01.2019; опубл. 10.12.2019. Бюл. № 34.

27. Моисеенко Е.И., Грамматикова Н.Э., Щекотихин А.Е. Синтез и антибактериальная активность аминокислотаминов эремомоцина // Макрогетероциклы. 2020. Т. 13. N 3. С. 298–304. DOI: 10.6060/mhc200812s.

28. Лагун А.В., Кульвинский Е.А., Кульвинская Н.А. Исследование чувствительности метициллин-резистентных *Staphylococcus aureus* к антибиотикам и препаратам бактериофагов // Проблемы здоровья и экологии. 2024. Т. 21. N 1. С. 93–101. DOI: 10.51523/2708-6011.2024-21-1-12. EDN: XYQPNQ.

29. Das M.C., Biswas A., Chowdhury M., Saha J. Screening antimicrobial susceptibility of gentamicin, vancomycin, azithromycin, chloramphenicol and cefotaxime against selected gram positive and gram negative bacteria // International Journal of Pharma Research and Health Sciences. 2014. Vol. 2, no. 4. P. 324–331.

30. Pederson A., Coleman R.B., Irving M. An unknown source of *Micrococcus luteus* bacteremia // The Southwest Respiratory and Critical Care Chronicles. 2023. Vol. 11, no. 48. P. 43–45. DOI: 10.12746/swrccc.v11i48.1187.

31. Szemraj M., Glajzner P., Sienkiewicz M. Decreased susceptibility to vancomycin and other mechanisms of resistance to antibiotics in *Staphylococcus epidermidis* as a therapeutic problem in hospital treatment // Scientific Reports. 2023. Vol. 13, no. 1. P. 13629. DOI: 10.1038/s41598-023-40866-3.

32. Álvarez-Pérez S., Anega B., Blanco J.L., Hernández M., García M.E. *In vitro* activity of fidaxomicin and combinations of fidaxomicin with other antibiotics against *Clostridium perfringens* strains isolated from dogs and cats // BMC Veterinary Research. 2023. Vol. 19, no. 1. P. 238. DOI: 10.1186/s12917-023-03801-2.

REFERENCES

1. Panditharathne P.N.K.W., Kumbukgolla W.W., Jayaweera J.A.A.S., Rawat D.S. Review on usage of vancomycin in livestock and humans: maintaining its efficacy, prevention of resistance and alternative therapy. *Veterinary Sciences*. 2017;4(1):6. DOI: 10.3390/vetsci4010006.

2. Mann A., Nehra K., Rana J.S., Dahiya T. Antibiotic resistance in agriculture: perspectives on upcoming strategies to overcome upsurge in resistance. *Current Research in Microbial Sciences*. 2021;2:100030. DOI: 10.1016/j.crmicr.2021.100030.

3. Sazykin I.S., Khmelevtsova L.E., Seliverstova E.Y., Sazykina M.A. Effect of antibiotics used in animal husbandry on the distribution of bacterial drug resistance (review). *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2021;57(1):20–30. DOI: 10.1134/S0003683821010166.

4. Low C.X., Tan L.T.-H., Mutalib N.-S.A., Pusparajah P., Letchumanan V., Lee L.-H., et al. Unveiling the impact of antibiotics and alternative methods for animal husbandry: a review. *Antibiotics*. 2021;10(5):578. DOI: 10.3390/antibiotics10050578.

5. Samarin G.N., Belyakov M.V., Lyashchuk Yu.O. Current trends in the use of antimicrobials in agriculture. *Russian Journal of Resources, Conservation and Recycling*. 2023;10(1):20. (In Russian). DOI: 10.15862/22ECOR123. EDN: LONKRL.

6. Vysochanskaya O.N., Kuleshova S.I., Simonova E.P. Glycopeptide antibiotics: structural and functional aspects, application in medicine and standardization. *Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical devices. Regulatory Research and Expertise*

of medicines. 2023;13(2-1):261-270. (In Russian). DOI: 10.30895/1991-2919-2022-447.

7. Kisil O.V., Efimenko T.A., Efremenkova O.V. Looking back to Amycolatopsis: history of the antibiotic discovery and future prospects. *Antibiotics*. 2021;10:1254. DOI: 10.3390/antibiotics10101254.

8. Gause G.F., Brazhnikova M.G., Lomakina N.N., Berdnikova T.F., Fedorova G.B., Tokareva N.L., et al. Eremomycin-new glycopeptide antibiotic: chemical properties and structure. *Journal of Antibiotics*. 1989;42(12):1790-1799. DOI: 10.7164/antibiotics.42.1790.

9. Park S., Ronholm J. *Staphylococcus aureus* in agriculture: lessons in evolution from a multispecies pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*. 2021;34(2):e00182-e00220. DOI: 10.1128/CMR.00182-20.

10. Kisil O.V., Gabrielyan N.I., Maleev V.V. Antibiotic resistance - what can be done? A review. *Therapeutic Archive*. 2023;95(1):90-95. (In Russian). DOI: 10.26442/00403660.2023.01.202040. EDN: CZDJLC.

11. Malkova I.V., Borisova O.K., Pavlova M.V., Zemlyanitskaya E.P., Sergeeva T.I. In vitro activity of the new glycopeptide antibiotic eremomycin against obligate anaerobic gram-positive bacteria. *Antibiotics and Chemotherapy*. 1991;36(4):17-20. (In Russian).

12. Ryzhkov I.O., Samsonov M.Yu., Chernobrovkin M.G., Shobolov D.L. *Method for treating human diseases caused by gram-positive bacteria*. Patent RF, no. 2661613; 2018. (In Russian).

13. Brazhnikova M.G., Lajko A.V., Fedorova G.B., Preobrazhenskaya T.P., Sveshnikova M.A., Lapchinskaya O.A., et al. *Strain Amycolatopsis orientalis* subsp. *eremomycini* VKPM S-892 is a producer of the antibiotic eremomycin and a method for obtaining the antibiotic eremomycin. Patent RF, no. 2110578; 1998. (In Russian).

14. Goldenberg L.E., Stepanova E.S., Vetrogradova T.P., Shevchuk L.A., Shepelevtseva N.G. Preclinical toxicological study of the new antibiotic eremomycin. *Antibiotiki i biotekhnologii*. 1987;32(12):910-915. (In Russian).

15. Dzhavakhiya V.V., Glagoleva E.V., Popova E.D., Ovchinnikov A.I., Skryabin K.G., Shobolov D.L., et al. Development of a new *Amycolatopsis orientalis* strain for high-yield eremomycin production. *Biotechnology*. 2017;33(1):42-52. (In Russian). DOI: 10.1016/0234-2758-2017-33-1-42-52. EDN: YNTLXT.

16. Dzhavakhiya V.V., Glagoleva E.V., Popova E.D., Ovchinnikov A.I., Skryabin K.G., Shobolov D.L., et al. *Strain Amycolatopsis orientalis* – producer of the antibiotic eremomycin and method for producing eremomycin. Patent RF, no. 2621866; 2017. (In Russian).

17. Bulygina E.S., Kuznetsov B.B., Marusina A.I., Kravchenko I.K., Bykova S.A., Kolganova T.V., et al. Study of nucleotide sequences of nifH genes of some methanotrophic bacteria. *Microbiology*. 2002;71(4):500-508. (In Russian).

18. Shakhova D., Kanochkina M.S. Prospects and features of the turbidimetric analysis method for determining the antimicrobial activity of peptides and antibiotics of the glycopeptide series (review). *Health, Food & Biotechnology*. 2024;6(4):73-93. (In Russian). DOI: 10.36107/hfb.2024.i4.s242. EDN: IDWVZE.

19. Gauze G.F., Preobrazhenskaya T.P., Lajko A.V., Selezneva T.I., Sveshnikova M.A., Brazhnikova M.G., et al. *Antibiotic Eremomycin and method of its preparing*. Patent USSR, no. 1475150; 1997. (In Russian).

20. Lapchinskaya O.A., Fedorova G.B., Pogozheva V.V., Preobrazhenskaya M.N., Katrukha G.S., Ponomarenko V.I., et al. *Strain Amycolatopsis orientalis* VKPM-As-807 – producer of Eremomycin. Patent RF, no. 2352631; 2009. (In Russian).

21. Irianto V.S., Demirkan E., Cetinkaya A. A. UV-mutagenesis for lipase overproduction from *Bacillus cereus* ATA179, nutritional optimization, characterization and its usability in the detergent industry *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 2023;54(7):918-931. DOI: 10.1080/10826068.2023.2299441.

22. Yaderets V.V., Karpova N.V., Glagoleva E.V., Petrova K.S., Shibaeva A.S., Dzhavakhiya V.V. Carotenoids: Overview of the main methods and conditions of their preparation. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(1):41-54. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.905. EDN: LQHTED.

23. Zhu Q., Han Q., Zhang S. The ultraviolet-b radiation characteristics of planar excilamps filled with gas mixture of xenon, bromine and chlorine. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. 2024;44:523-546. DOI: 10.1007/s11090-023-10428-6.

24. Stackebrandt E., Ebers J. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiology Today*. 2006;8(4):152-155.

25. Bely P.A., Lopatukhin E.Yu., Zaslavskaya K.Ya., Fedorov S.V., Zemskov D.N., Nigmatova D.N. *A new strain of Amycolatopsis japonica producing vancomycin*. Patent RF, no. 2788348; 2023. (In Russian).

26. Shchekotikhin A.E., Moiseenko E.I., Korolev A.M., Grammatikova N.E., Mirchink E.P., Isakova E.B. *New Derivatives of Eremomycin and Their Application for the Treatment of Bacterial Infections*. Patent RF, no. 2708628; 2019. (In Russian).

27. Moiseenko E.I., Grammatikova N.E., Shchekotikhina A.E. Synthesis and antibacterial activity aminoalkylamides of eremomycin. *Macrocycles*. 2020;13(3):298-304. (In Russian). DOI: 10.6060/mhc200812s.

28. Lagun L.V., Kulvinsky Ya.A., Kulvinskaya N.A. Study of the sensitivity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to antibiotics and bacteriophage preparations. *Health and Ecology Issues*. 2024;21(1):93-101. (In Russian). DOI: 10.51523/2708-6011.2024-21-1-12. EDN: XYQPNQ.

29. Das M.C., Biswas A., Chowdhury M., Saha J. Screening antimicrobial susceptibility of gentamicin, vancomycin, azithromycin, chloramphenicol and cefotaxime against selected gram positive and gram negative bacteria. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*. 2014;2(4):324-331.

30. Pederson A., Coleman R.B., Irving M. An unknown source of *Micrococcus luteus* bacteremia. *The Southwest Respiratory and Critical Care Chronicles*. 2023;11(48):43-45. DOI: 10.12746/swrccc.v11i48.1187.

31. Szemraj M., Glajzner P., Sienkiewicz M. Decreased susceptibility to vancomycin and other mechanisms of resistance to antibiotics in *Staphylococcus epidermidis* as a therapeutic problem in hospital treatment. *Scientific Reports*. 2023;13(1):13629. DOI: 10.1038/s41598-023-40866-3.

32. Álvarez-Pérez S., Anega B., Blanco J.L., Hernández M., García M.E. In vitro activity of fidaxomicin and combinations of fidaxomicin with other antibiotics against *Clostridium perfringens* strains isolated from dogs and cats. *BMC Veterinary Research*. 2023;19(1):238. DOI: 10.1186/s12917-023-03801-2.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Шибаета Александра Сергеевна,

аспирант,
Российский биотехнологический
университет (РОСБИОТЕХ),
125080, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11,
Российская Федерация,
✉ aleksandrashibaeva@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1115-6532>

Глаголева Елена Викторовна,

заместитель руководителя
биотехнологического направления,
ООО «Иннагро»,
119311, г. Москва, Цветной б-р, 30,
Российская Федерация,
glagolevaev@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3894-0255>

Джавахия Вахтанг Витальевич,

к.б.н.,
директор научно-производственного
центра «Индустриальные биотехнологии»,
Российский биотехнологический
университет (РОСБИОТЕХ),
125080, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11,
Российская Федерация,
генеральный директор,
ООО «Иннагро»,
119311, г. Москва, Цветной б-р, 30,
Российская Федерация,
vahoru@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5161-5051>

Воинова Татьяна Михайловна,

старший научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский
институт фитопатологии,
143050, р.п. Большие Вяземы, ул. Институт,
здание 5,
tatiana.voinova@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7162-545X>

Ядерец Вера Владимировна,

к.б.н., доцент,
Российский биотехнологический
университет (РОСБИОТЕХ),
125080, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11,
Российская Федерация,
verayaderetz@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5220-7877>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Aleksandra S. Shibaeva,

Postgraduate Student,
Russian Biotechnology University
(ROSBIOTECH),
11, Volokolamskoe Sh., Moscow, 125080,
Russian Federation,
✉ aleksandrashibaeva@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1115-6532>

Elena V. Glagoleva,

Deputy Head of Biotechnology,
LLC "Innagro",
30, Tsvetnoi Ave., Moscow, 119311,
Russian Federation,
glagolevaev@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3894-0255>

Vakhtang V. Dzhavakhiya,

Cand. Sci. (Biology),
Director, R&D Center "Industrial Biotechnologies",
Russian Biotechnology University
(ROSBIOTECH),
11, Volokolamskoe Sh., Moscow, 125080,
Russian Federation,
Director General,
LLC "Innagro",
30, Tsvetnoi Ave., Moscow, 119311,
Russian Federation,
vahoru@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5161-5051>

Tatiana M. Voinova,

Senior Researcher,
All-Russian Research Institute of Phytopathology,
5, Institute St., Bolshie Vyazemy, 143050,
Russian Federation,
tatiana.voinova@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-7162-545X>

Vera V. Yaderets,

Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
Russian Biotechnology University
(ROSBIOTECH),
11, Volokolamskoe Sh., Moscow, 125080,
Russian Federation,
verayaderetz@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5220-7877>

Вклад авторов

А.С. Шибеева – проведение исследования, валидация результатов, написание черновика рукописи.
Е.В. Глаголева – разработка методологии, редактирование рукописи.
В.В. Джавахия – разработка концепции, редактирование рукописи.
Т.М. Воинова – проведение исследования, валидация результатов.
В.В. Ядерец – редактирование рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 05.03.2025.
Одобрена после рецензирования 23.05.2025.
Принята к публикации 20.03.2026.

Contribution of the authors

Aleksandra S. Shibaeva – investigation, validation, writing – original draft.
Elena V. Glagoleva – methodology, editing.
Vakhtang V. Dzhavakhiya – conceptualization, editing.
Tatiana M. Voinova – investigation, validation.
Vera V. Yaderets – 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 05.03.2025.
Approved after reviewing 23.05.2025.
Accepted for publication 20.03.2026.



***Escherichia coli* – перспективный биотест-объект для оценки качества молочного сырья при его термообработке**

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

Казанский национальный исследовательский технологический университет,
Казань, Российская Федерация

Аннотация. На сегодняшний день важнейшей проблемой в области производства молочной 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 теххимического контроля. В связи с этим целью настоящего исследования являлась разработка методики биотестирования молочного сырья с использованием в качестве биотест-объекта культуры *Escherichia coli* M-180. Исследованию подвергались пробы коровьего молока, обработанные при промышленных режимах пастеризации. В качестве тест-реакций использовали ростовые характеристики (скорость роста и прирост биомассы) и стрессоустойчивость *Escherichia coli* к перексиду водорода при ее культивировании на синтетической питательной среде М9 с добавлением проб термообработанного коровьего молока. На основании серии экспериментальных исследований установлена не только высокая чувствительность выбранного тест-объекта *Escherichia coli* M180 к режимам термообработки молочного сырья, но и хорошая согласованность результатов по контрольным тест-откликам *Escherichia coli*, что подтверждает возможность и перспективность ее использования в качестве биотеста для оценки качества пастеризованного молока. Согласно результатам, полученным по предложенной экспресс-методике биотестирования, показано, что промышленные режимы пастеризации 76 °С, 5 мин и 90 °С, 20 с обеспечивают более высокую сохранность антиоксидантов нативного молока при его термообработке. Таким образом, разработанная методика биотестирования позволяет осуществлять выбор рационального метода пастеризации, обеспечивающего максимально возможную сохранность биологически активных веществ нативного молочного сырья.

Ключевые слова: биотестирование, молочное сырье, термообработка, *Escherichia coli*, стрессоустойчивость, антиоксиданты

Для цитирования: Щербакова Ю.В., Ахмадуллина Ф.Ю., Сироткин А.С. *Escherichia coli* – перспективный биотест-объект для оценки качества молочного сырья при его термообработке // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 123–132. DOI: 10.21285/achb.1028. EDN: UZWUEB.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

***Escherichia coli* as a promising bioassay organism for monitoring milk quality during heat treatment**

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

Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation

Abstract. The development and implementation of rapid quality control methods for milk raw materials and food products are pressing challenges in contemporary dairy production. Such methods must combine high sensitivity,

reproducibility, integrality, simplicity, and reliability, while complementing existing physicochemical quality control techniques. In this regard, our aim was to develop a bioassay method for milk quality monitoring using *Escherichia coli* M-180 as the test organism. Samples of cow's milk subjected to industrial pasteurization regimes were analyzed. The test reactions included growth characteristics (growth rate and biomass increase) and the stress resistance of *Escherichia coli* to hydrogen peroxide when cultured on synthetic M9 nutrient medium supplemented with heat-treated milk samples. Based on a series of experimental studies, *Escherichia coli* M-180 exhibited not only high sensitivity to milk heat-treatment regimes but also strong consistency in control test responses. This confirms the feasibility and potential of using *Escherichia coli* as a bioassay for evaluating the quality of pasteurized milk. According to the test results of the proposed methodology, industrial pasteurization regimes of 76 °C for 5 min and 90 °C for 20 s better preserve natural antioxidants in milk during its heat treatment. The developed bioassay method enables the selection of optimal pasteurization regimes to ensure maximal preservation of biologically active compounds in raw milk.

Keywords: bioassay, milk, heat treatment, *Escherichia coli*, stress resistance, antioxidants

For citation: Shcherbakova Yu.V., Akhmadullina F.Yu., Sirotkin A.S. *Escherichia coli* as a promising bioassay organism for monitoring milk quality during heat treatment. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):123-132. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1028. EDN: UZWUEB.

ВВЕДЕНИЕ

Негативным последствием двухсотлетнего периода техногенеза является экологический кризис глобальных масштабов, приведший к ухудшению качества жизни человека и тем самым снижению качества современных трудовых ресурсов. Среди многочисленных аспектов, подтверждающих данный факт, следует назвать неблагоприятное изменение состава продукции агропромышленного комплекса из-за большой вероятности попадания в них посторонних компонентов, представляющих токсикологическую опасность, вследствие использования современных средств защиты растений, антибиотиков в животноводстве, специальных добавок технологического назначения при производстве продуктов питания [1, 2], в том числе молочной и кисломолочной продукции, составляющих основу рациона питания современного человека. Последнее связано с уникальностью свойств молочного сырья [3, 4]. Учитывая возможное многообразие недопустимых примесей в молочном сырье, а также современные технологические приемы его обработки, влияющие на его качество, можно сказать, что невозможность использования аналитических методов для обеспечения полноценного производственного контроля и оценки качества пищевых продуктов из-за их высокой затратности приводит к необходимости разработки и внедрения альтернативных интегральных методов биодиагностики.

В первую очередь это относится к методу биотестирования. На сегодняшний день это преимущественно методики по оценке токсичности исследуемого объекта, основанные на способности определенных чувствительных организмов реагировать на присутствие токсичных соединений, антибиотиков, тяжелых металлов и других вредных примесей. Наиболее известные методики оценки безопасности продукции агропромышленного комплекса используют культуры клеток тканей человека и животных, бактерии, инфузории, дафнии, а также одноклеточные и многоклеточные водоросли, высшие растения и их части [4–6]. Тем не менее практически отсутствуют разработки по методикам биотестирования для оценки изменения качества сельскохозяйственного сырья при технологических операциях, необходимых для получения готовой продукции [6].

В связи с этим цель настоящего исследования заключалась в разработке методики биотестирования

молочного сырья при использовании в качестве биотеста *Escherichia coli*.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- скрининг рациональных условий биотестирования молочного сырья;
- изучение влияния промышленных режимов пастеризации на стрессоустойчивость тест-культуры *E. coli* M-180;
- разработка экспресс-методики биотестирования для оценки качества термообработанного молока.

Данная методика биотестирования позволит осуществлять выбор рационального метода пастеризации, обеспечивающего максимально возможную сохранность биологически активных веществ нативного молочного сырья.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объект исследования. Объектами исследования являлись пробы нативного и термообработанного молока. Молоко получали от здоровых животных на сельхозпредприятии ООО имени Тукая Ютазинского района, благополучного в отношении инфекционных заболеваний. Термообработку проб молочного сырья проводили с учетом промышленных режимов пастеризации [4].

Определение ростовых характеристик тест-объекта. При проведении исследования использовалась суточная культура *E. coli* M-180 (культура получена из коллекции микроорганизмов Казанского (Приволжского) федерального университета), выращенная на твердой питательной среде мясопептонном агаре при температуре 37 °C.

Инокулят тест-объекта готовили на минеральной среде M9 [7] в процессе 24-часового культивирования на качалках со скоростью вращения 150 об/мин при температуре 35 °C.

При проведении биотестирования в колбы с минеральной средой M9 стерильно вносили суточный инокулят бактериальной культуры из расчета начальной оптической плотности, приблизительно равной 0,1, с последующим добавлением проб молока и культивированием в условиях, аналогичных получению инокулята. За ростом бактерий следили по изменению оптической плотности среды культивирования с инокулятом, изме-

ряемой каждые 30 мин на фотоколориметре КФК-2 (ПО ЗОМЗ, Россия, г. Сергиев Посад) при $\lambda = 590$ нм в одностиметровых кварцевых кюветах [8]. Скорость роста рассчитывали для логарифмической фазы по кривой роста по следующей формуле:

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

где D_k – оптическая плотность, соответствующая концу экспоненциальной фазы роста, в процентах от начального значения D ; D_n – оптическая плотность, соответствующая началу экспоненциальной фазы роста, в процентах 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 для бактериальной культуры создавали условия окислительного стресса с помощью внесения в питательную среду пероксида водорода (конечная концентрация 10 мМ). До внесения пероксида водорода и через 30 мин после его внесения определяли количество колоний *E. coli* в каждой колбе методом посева проб на плотную питательную среду Эндо [9]. Дополнительно в работе оценивали общее количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в пробах молока с помощью высевов их на плотную питательную среду КМАФАнМ [10].

Основными критериями при разработке биометода контроля качества молока являлись:

- экспрессность предлагаемого метода биодиагностики;
- контаминация молочного сырья;
- чувствительность *E. coli* к изменениям качества термообработанного молока.

Все экспериментальные исследования проводили в трехкратной повторности. Полученные данные подвергались последующему статистическому анализу для подтверждения воспроизводимости и достоверности результатов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведена серия экспериментальных исследований по оценке качества молочного сырья методом биотестирования с использованием в качестве тест-объекта *E. coli* M-180.

Выбор бактериального тест-объекта был обусловлен коротким циклом развития и, как следствие, возможностью получения в любое время необходимого количества тест-культур для проведения эколого-токсикологического контроля сельскохозяйственного сырья и готовой пищевой продукции. Следует отметить и другие преимущества рассматриваемого биотеста: неприхотливость к условиям культивирования, простоту и доступность широкого использования, высокую чувствительность к изменениям среды, удобство лабораторного моделирования, хорошую воспроизводимость откликов на изменение условий среды, высокую скорость роста. Кроме того, кишечная палочка является наиболее изученным микроорганизмом. Таким образом, следует считать культуру *E. coli* удачной моделью для проведения процедуры биотестирования.

В дополнение отметим, что представители *E. coli* являются компонентами облигатной микрофлоры

человека и при переваривании пищи могут прямо контактировать с биологически активными компонентами молока и участвовать в их метаболизме [11].

В качестве основных тест-реакций биомодели были выбраны стрессоустойчивость и ростовые характеристики.

Оценка экспрессности разрабатываемого метода биотестирования. Для проведения биотестирования тест-объект культивировали на синтетической минеральной среде М9 [7]. Ее выбор был обусловлен необходимостью оценки влияния биологически активных компонентов молочного сырья на *E. coli*. Первоначально осуществляли накопление тест-культуры и оценку показателей ее инокулята на выбранной минеральной среде с помощью нефелометрического метода, отличающегося экспрессностью по сравнению с трудоемким методом посева на твердые питательные среды.

Полученные показатели инокулята – однородность (равномерное распределение микроорганизмов в суспензии, исключающее формирование скоплений) и достаточно высокая оптическая плотность (мутность) – подтвердили возможность и перспективность использования нефелометрического метода при изучении ростовых характеристик биотеста (табл. 1).

Таблица 1. Показатели инокулята бактерии *Escherichia coli* M-180

Table 1. Indicators of the inoculum of the bacterium *Escherichia coli* M-180

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

Как видно из представленного графического материала (рис. 1), отмечены хорошие ростовые характеристики выбранного тест-объекта на минеральной среде М9: к выходу культуры на стационарную фазу отмечается удвоение биомассы.

Следует отметить, что выход бактериальной культуры на стационарную фазу роста наблюдается за 2–3 ч, что свидетельствует о возможности разработки методики достаточного уровня экспрессности для оценки качества молока. Данный вывод обусловлен тем, что время выхода *E. coli* на стационарную фазу роста сильно зависит от условий культивирования, состава питательной среды и начальной плотности инокулята, конкретного штамма бактериальной культуры и может варьироваться до 5–6 ч.

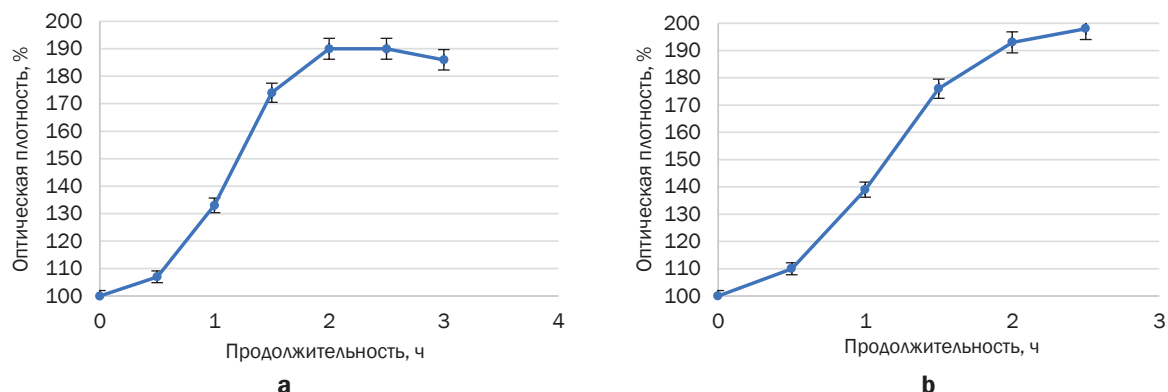


Рис. 1. Кривые роста *Escherichia coli* M-180: а – эксперимент 1; б – эксперимент 2 (в качестве примера)

Fig. 1. *Escherichia coli* M-180 growth curves: a – experiment 1; b – experiment 2 (as an example)

Контаминация молочного сырья. Учитывая потенциальную возможность высокой обсемененности нативного молочного сырья, для определения назначения разрабатываемой методики (тип исследуемого молока) были проведены исследования по наличию кишечной палочки в нативном и термообработанном молоке (промышленные режимы пастеризации) в сравнительном аспекте. Для этого проводили высевы нативного и пастеризованного молока на дифференциально-диагностическую среду Эндо (табл. 2).

Согласно полученным результатам, все исследованные режимы пастеризации обеспечивали полное уничтожение кишечной палочки в молоке.

Дополнительно в работе была проведена проверка общей обсемененности термообработанного молока с высевом соответствующих проб на среду КМАФАМ (табл. 3).

Полученные результаты свидетельствуют, что все исследованные режимы пастеризации молока обеспечивают требуемую степень его обеззараживания, поскольку значения КМАФАМ исследованных проб молока не превышают нормативы (1×10^5 КОЕ/см³) согласно ГОСТ 32901-2014. При этом можно отметить сопоставимость данного показателя для каждой пробы пастеризованного молока.

Таблица 2. Содержание бактерий группы *Escherichia coli*, КОЕ/см³, при разных режимах пастеризации

Table 2. Content of *Escherichia coli* bacteria, CFU/cm³, under different pasteurization modes

Номер опыта	Молоко нативное (не пастеризованное)	Молоко, пастеризованное при режиме			
		65 °C, 30 мин	76 °C, 5 мин	90 °C, 20 с	95 °C, 5 мин
1	107000	–	–	–	–
2	124000	–	–	–	–
3	45600	–	–	–	–
4	89300	–	–	–	–
5	147000	–	–	–	–
6	52300	–	–	–	–
7	100500	–	–	–	–
8	74000	–	–	–	–
9	123000	–	–	–	–

Примечание. Прочерк – не обнаружено.

Таблица 3. Содержание мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, КОЕ/см³, при разных режимах пастеризации

Table 3. Content of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms, CFU/cm³, under different pasteurization modes

Номер опыта	Режим пастеризации			
	65 °C, 30 мин	76 °C, 5 мин	90 °C, 20 с	95 °C, 5 мин
1	215	211	230	206
2	243	239	226	214
3	536	553	531	534
4	352	353	348	333
5	285	251	259	272

Таким образом, получено экспериментальное подтверждение возможности и целесообразности использования разрабатываемого биометода для оценки качества пастеризованного молока в производственных технологических процессах обработки молочного сырья. При этом необходимо отметить, что пробы исходного (сырого) молока не могут служить в работе объектом исследования из-за их высокой контаминации бактериями *E. coli*.

Чувствительность *Escherichia coli* к изменениям качества термообработанного молока. Для оценки чувствительности предлагаемого биотеста первоначально был осуществлен подбор оптимальной объемной концентрации молока, вносимой в среду культивирования *E. coli*, для проведения биотестирования. Эксперименты проводили с пробами кипяченого молока. В контрольном опыте проводили культивирование тест-объекта без добавления молока. Диапазон доз термообработанного молока, вносимых в среду культивирования объемом 40 мл, варьировал от 10 до 50 мкл. При дальнейшем увеличении вводимой молочной дозы наблюдалась пленка и хлопьеобразование, что лимитировало использование нефелометрического метода. Результаты исследования приведены на рис. 2.

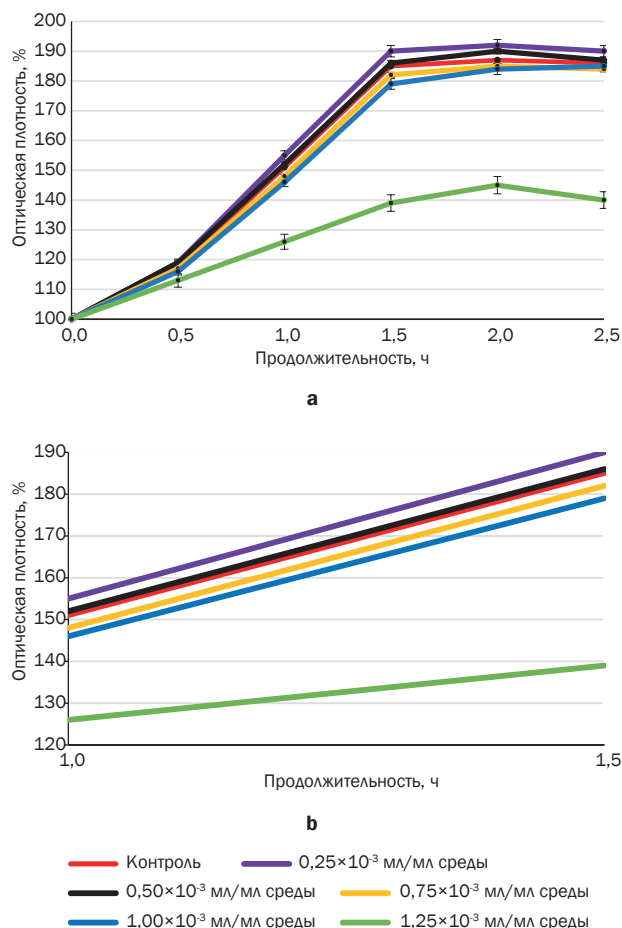


Рис. 2. Влияние коровьего молока на рост бактерии *Escherichia coli*: а – все фазы роста культуры; б – небольшой фрагмент экспоненциальной фазы роста в увеличенном масштабе (в качестве примера)

Fig. 2. Cow milk effect on the growth of the bacterium *Escherichia coli*: а – all phases of culture growth; б – a small fragment of the exponential growth phase on an enlarged scale (as an example)

Следует отметить, что добавление молока в среду культивирования в объемных концентрациях более $0,5 \times 10^{-3}$ мл/мл среды (20 мкл) приводило к ингибированию роста культуры. В связи с этим дальнейшие исследования проводили с объемными концентрациями молока в диапазоне от $0,5 \times 10^{-3}$ до $0,125 \times 10^{-3}$ мл/мл среды, учитывая, что биологически активные вещества проявляют свое действие в сверхмалых дозах [12, 13] (рис. 3).

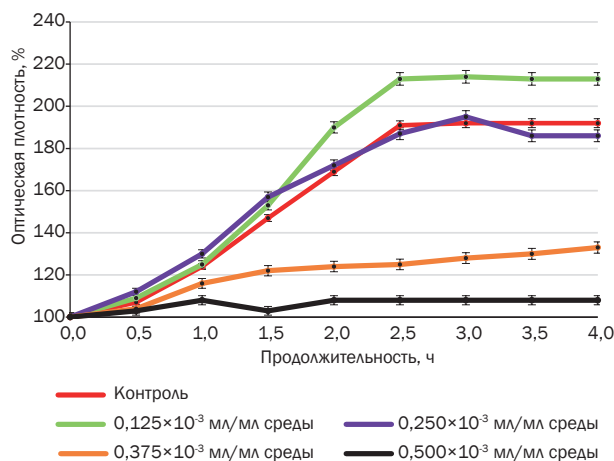


Рис. 3. Влияние коровьего молока на рост бактерии *Escherichia coli* в объемных концентрациях от $0,125 \times 10^{-3}$ до $0,500 \times 10^{-3}$ мл/мл среды (в качестве примера)

Fig. 3. Cow milk effect on the growth of *Escherichia coli* bacteria in volume concentrations from $0,125 \times 10^{-3}$ to $0,500 \times 10^{-3}$ ml/ml medium (as an example)

Как видно из представленного материала, при объемной концентрации $0,125 \times 10^{-3}$ мл/мл среды наблюдается максимальный рост культуры биотеста, что подтверждает чувствительность *E. coli* к комплексу биологически активных компонентов молока.

К компонентам молока, стимулирующим бактериальный рост, относятся лактоза, низкомолекулярные пептиды, аминокислоты, витамины (А, Е, В, С, В₁, В₃, В₆, В₁₂), минеральные элементы (Са, Mg, К, Na). Лактоза может использоваться *E. coli* как субстрат, однако при объемных концентрациях молока $0,125 \times 10^{-3}$ мл/мл среды вопрос об использовании кишечной палочкой лактозы как субстрата не встает. В этом случае молоко выступает источником биологически активных веществ, необходимых микроорганизмам в малых дозах.

Дальнейшая апробация разрабатываемого метода осуществлялась на основании оценки влияния пастеризованного при различных режимах молока на удельную скорость роста и прирост биомассы тест-объекта, зависящие от биохимической ценности среды культивирования (рис. 4).

Полученные результаты однозначно подтверждают влияние условий термообработки молока на ростовые характеристики культуры *E. coli*, причем следует отметить, что тенденции изменения скоростей роста бактериальной культуры в зависимости от пробы пастеризованного молока от опыта к опыту практически повторяются. Приведенные данные хорошо согласуются с экспериментальными результатами по приросту биомассы бак-

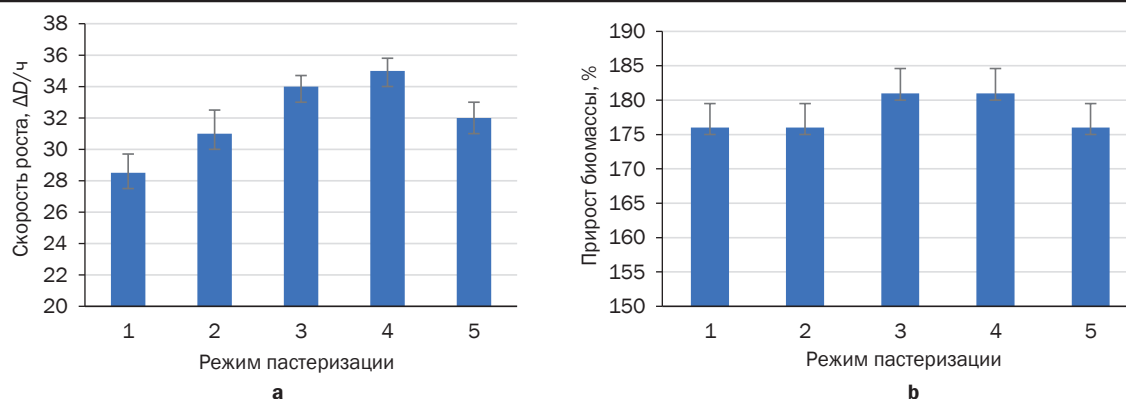


Рис. 4. Влияние термообработанного коровьего молока на скорость роста (а) и прирост биомассы (б) бактерий *Escherichia coli*: 1 – контроль (без молока); 2 – 65 °C, 30 мин; 3 – 76 °C, 5 мин; 4 – 90 °C, 20 с; 5 – 95 °C, 5 мин (в качестве примера)

Fig. 4. Heat-treated cow milk effect on the growth rate (a) and biomass growth (b) of *Escherichia coli* bacteria: 1 – control (without milk); 2 – 65 °C, 30 min; 3 – 76 °C, 5 min; 4 – 90 °C, 20 s; 5 – 95 °C, 5 min (as an example)

териальной культуры: наибольший прирост биомассы отмечен для *E. coli* с более высокой скоростью роста (см. рис. 4), что также подтверждает их достоверность, поскольку для стимуляторов роста является характерным увеличение концентрации биомассы [14, 15].

Вышеизложенное указывает, что бактерии *E. coli* M-180 могут служить тест-объектом для оценки качества пастеризованного молока.

Второй этап работы предполагал изучение отклика тест-культуры на условия термообработки молока по тест-реакции – стрессоустойчивость.

Как известно, в условиях стресса сбалансированность питания антиоксидантами отвечает за «стабильную работу» организма, способствует стимуляции его защитной системы, направленной на поддержание в пределах нормы реакции организма [16–19].

В качестве стрессора была выбрана перекись водорода, которая является индикатором повреждения преимущественно липидной части мембраны. В работе использовали перекись водорода в концентрации 10 мМ. Согласно данным литературы, эта концентрация вызывает пероксидный стресс у выбранного тест-объекта и обладает по отношению к нему бактерицидным действием [11].

В качестве основного параметра исследования была выбрана выживаемость кишечной палочки 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 *E. coli* до стресса.

При проведении исследований в этом направлении предварительно определяли необходимое разведение изучаемых проб для посева на среду Эндо в соответствии с описанием, приведенным в экспериментальной части данной статьи (табл. 4).

Показана необходимость разведения, равная $1:10^6$ и $1:10^5$ соответственно до и после внесения стрессора в исследуемые пробы среды культивирования тест-объекта.

При оценке влияния термообработки молока на стрессоустойчивость биотеста эксперименты проводили аналогично с учетом установленного разведения, сопоставляя изменение обсемененности исследуемых проб в относительных единицах (рис. 5). Контролем 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 коровьего молока, обработанного при режимах пастеризации 76 °C, 5 мин и 90 °C, 20 с.

Данный факт может служить свидетельством того, что указанные режимы позволяют сохранить биологически активные компоненты молока, препятствующие протеканию окислительного стресса, способствуя выживанию бактериальной культуры, а также выходу в плазму молока дополнительных факторов роста за счет процессов деструктурирования составляющих молока, включая микро- и макроэлементы, аминокислоты, низкомолекулярные пептиды, некоторые витамины [3, 4]. Известно, что последние обладают антиоксидантной

Таблица 4. Разведения исследованных проб бактериальной культуры *Escherichia coli* M-180 для посева на среду Эндо в середине логарифмической фазы роста

Table 4. Dilutions 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 пробы											
	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	250	∞	∞	∞	∞	210	20
2	∞	∞	∞	∞	1200	190	∞	∞	∞	∞	140	6
3	∞	∞	∞	∞	1100	120	∞	∞	∞	∞	160	9

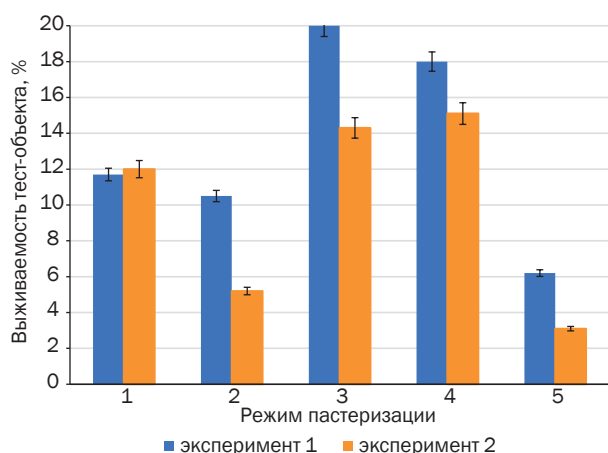


Рис. 5. Влияние термообработанного коровьего молока на стрессоустойчивость бактерии *Escherichia coli* M-180: 1 – контроль (без молока); 2 – 65 °C, 30 мин; 3 – 76 °C, 5 мин; 4 – 90 °C, 20 с; 5 – 95 °C, 5 мин (в качестве примера)

Fig. 5. Heat-treated cow milk effect on the stress resistance of *Escherichia coli* M-180 bacteria: 1 – control (without milk); 2 – 65 °C, 30 min; 3 – 76 °C, 5 min; 4 – 90 °C, 20 s; 5 – 95 °C, 5 min (as an example)

активностью, поэтому клеточная популяция микроорганизмов, выращенная в среде, богатой антиоксидантами (пробы с добавлением молока, обработанного при 76 °C в течение 5 мин и при 90 °C в течение 20 с), характеризуется повышенной физиологической активностью и более высокими адаптационными способностями.

Что касается жестких режимов термообработки (65 °C, 30 мин и 95 °C, 5 мин), для них наблюдается

более низкая выживаемость *E. coli*, что с наибольшей вероятностью обусловлено образованием активных форм кислорода, способствующих интенсификации перекисного окисления липидов и являющихся ингибиторами клеточного размножения, что получило экспериментальное подтверждение [3, 4, 20–22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. На основании серии экспериментальных исследований показано достоверное влияние промышленных режимов пастеризации на ростовые характеристики *E. coli* M-180, что подтверждает возможность и перспективность использования данной культуры как тест-объекта в ходе биотестирования качества термообработанного молока при его введении в среду культивирования в объемной концентрации $0,125 \times 10^{-3}$ мл/мл среды.

2. Изучена стрессоустойчивость биотеста к перексиду водорода в концентрации 10мМ при внесении в среду культивирования термообработанного молока. Установлена зависимость выживаемости *E. coli* M-180 в условиях перексидного стресса от режима пастеризации молочного сырья.

3. Освоена и отлажена экспресс-методика биотестирования для оценки качества термообработанного молока, позволяющая осуществлять выбор рационального метода пастеризации, обеспечивающего максимально возможную сохранность биологически активных веществ натурального молочного сырья, на основании которой показано, что промышленные режимы 76 °C, 5 мин и 90 °C, 20 с отвечают данному требованию.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Treiber F.M., Beranek-Knauer H. Antimicrobial residues in food from animal origin – a review of the literature focusing on products collected in stores and markets worldwide // *Antibiotics*. 2021. Vol. 10, no. 5. P. 534. DOI: 10.3390/antibiotics10050534.
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: MGZXC.
3. Щербакова Ю.В., Ахмадулина Ф.Ю., Егорова Е.А. Перспективы использования метода гальваностатической кулонометрии для оценки интегральной антиоксидантной активности молока и кисломолочной продукции. Казань: Изд-во КНИТУ, 2019. 132 с.
4. Щербакова Ю.В., Семенова Ю.В., Багаутдинова 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: PCMSTH.
5. Сороколетов О.Н., Гаптар С.А., Бгатов А.В. Применение биотестирования для оценки биологической ценности пищевых продуктов // *Инновации и продовольственная безопасность*. 2022. Т. 4. С. 31–36. DOI: 10.31677/2311-0651-2022-38-4-31-36. EDN: HOWXAJ.
6. Щербакова Ю.В., Ахмадулина Ф. Ю. Метод биотестирования для оценки качества продукции агропромышленного комплекса. Казань: Изд-во КНИТУ, 2023. 100 с.
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 Photonics & Engineering*. 2023. Vol. 9, no. 2. P. 020203. DOI: 10.18287/JBPE23.09.020203.
9. Скоморова Ю.А., Кремлева А.А., Ахметова Л.Ш., Подольская Т.А., Шепелин А.П., Полосенко О.В. Сравнительная оценка дифференциально-диагностических сред для выделения *Escherichia coli* с целью применения в ветеринарных лабораториях // *Бактериология*. 2020. Т. 5. N 2. С. 24–32. DOI: 10.20953/2500-1027-2020-2-24-32. EDN: SCRTEP.
10. Маслов М.М., Казанина Т.А., Крупин А.Е., Матвеев В.Ю. Корреляционный анализ факторов, влияющих на уровень бактериальной обсемененности молока // *Агроинженерия*. 2022. Т. 24. N 2. С. 41–45. DOI: 10.26897/2687-1149-2022-2-41-45. EDN: KXPCFZ.
11. 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.

12. Zarkovic N. Antioxidants and Second Messengers Of Free Radicals // *Antioxidants*. 2018. Vol. 7. P. 158. DOI: 10.3390/antiox7110158.

13. 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.

14. 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. Vol. 102. P. 9131–9145. DOI: 10.1007/s00253-018-9357-y.

15. 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.

16. 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. Vol. 4. P. 6392763. DOI: 10.1155/2019/6392763.

17. 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.

18. Cabello-Verrugio C., Simon F., Trollet C., Santibañez J.F. Oxidative stress in disease and aging: mechanisms and therapies // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017. Vol. 1. P. 4310469. DOI: 10.1155/2017/4310469.

19. 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.

20. Bruskov V.I., Chernikov A.V., Gudkov S.V., Masalimov Zh.K. Thermal activation of the reducing properties of seawater anions // *Biophysics*. 2003. Vol. 48, no. 6. P. 942–949. EDN: LIEZSD.

21. 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 // *Biophysics*. 2018. Vol. 63, no. 5. P. 694–699. DOI: 10.1134/S0006350918050093. EDN: UGEQGR.

22. Belovolova L.V. Reactive oxygen species in aqueous media (a review) // *Optics and Spectroscopy*. 2020. Vol. 128, no. 7. P. 932–951. DOI: 10.1134/S0030400X20070036. EDN: HVFYTO.

REFERENCES

1. Treiber F.M., Beranek-Knauer H. Antimicrobial residues in food from animal origin – a review of the literature focusing on products collected in stores and markets worldwide. *Antibiotics*. 2021;10(5):534. DOI: 10.3390/antibiotics10050534.

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, 132 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. Sorokoletov O.N., Gaptar S.L., Bgatov A.V. Application of biotesting to assess the biological value of food products. *Innovations and Food Safety*. 2022;4(3):31-36. DOI: 10.31677/2311-0651-2022-38-4-31-36. (In Russian).

6. Shcherbakova Yu.V., Akhmadullina F.Yu. *Biotesting method to assess the quality of agro-industrial complex products*. Kazan: Kazan National Research Technological University; 2023, 100 p. (In Russian).

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 ehkstremaal'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. Vol. 9, no. 2. P. 020203. DOI: 10.18287/JBPE23.09.020203.

9. Skomorina Yu.A., Kremleva A.A., Akhmetova L.Sh., Podolskaya T.V., Shepelin A.P., Polosenko O.V. Comparative evaluation of nutrient media of *Escherichia coli* isolating for using in veterinary laboratories. *Bakteriologiya*. 2020;5(2):24-32. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2020-2-24-32. EDN: SCRTEP.

10. Maslov M.M., Kazanina T.A., Krupin A.E., Matveev V.Yu. Correlation analysis of factors affecting the bacterial contamination of milk. *Agricultural Engineering (Moscow)*. 2022;24(2):41-45. (In Russian). DOI: 10.26897/2687-1149-2022-2-41-45. EDN: KXPCFZ.

11. 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(4):362-367. (In Russian). EDN: XDYBLR.

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

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

14. 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.

15. 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.

16. 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;4:6392763. DOI: 10.1155/2019/6392763.

17. 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). DOI: 10.31857/S0301179821020041. EDN: DSCWEW.

18. Cabello-Verrugio C., Simon F., Trollet C., Santibañez J.F. Oxidative stress in disease and aging: mechanisms and therapies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;1:4310469. DOI: 10.1155/2017/4310469.

19. Martusevich A.K., Karuzin K.A. Metabolic estimation of efficiency of vitamin and mineral complexes in

qualified athletes. *Problems of Nutrition*. 2021;90(1):94-101. (In Russian). DOI: 10.33029/0042-8833-2021-90-1-94-101. EDN: YZEGGG.

20. Bruskov V.I., Chernikov A.V., Gudkov S.V., Mas-salimov Zh.K. Thermal activation of the reducing properties of seawater anions. *Biophysics*. 2003;48(6):942-949. EDN: LIEZSD.

21. 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. *Biophysics*. 2018;63(5):694-699. DOI: 10.1134/S0006350918050093. EDN: UGEQGR.

22. Belovolova L.V. Reactive oxygen species in aqueous media (a review). *Optics and Spectroscopy*. 2020;128(7):932-951. DOI: 10.1134/S0030400X20070036. EDN: HVFYTO.

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>

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.

INFORMATION ABOUT THE 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>

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.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 14.03.2025.
Одобрена после рецензирования 19.05.2025.
Принята к публикации 24.03.2026.

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 14.03.2025.
Approved after reviewing 19.05.2025.
Accepted for publication 24.03.2026.

Научная статья
УДК 662.756
EDN: VZQRQS
DOI: 10.21285/achb.1022



Перспективы отечественной технологии производства биокеросина

В.О. Давыдов***✉, П.А. Коровченко**, М.А. Заикин***, Я.Б. Древко*

*Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии
имени Н.И. Вавилова, Саратов, Российская Федерация

**Технологический центр «Газпром нефти», Санкт-Петербург, Российская Федерация

***Саратовский национальный исследовательский государственный университет
имени Н.Г. Чернышевского, Саратов, Российская Федерация

Аннотация. В настоящей работе затрагивается тема использования возобновляемых источников энергии при производстве биокеросина авиационного топлива. Возможность получения и применения синтезированного биокеросина в смеси с нефтяным керосином апробирована и сертифицирована зарубежными производителями. Основной целью применения биокеросина мировым сообществом является сокращение выбросов парниковых газов и снижение антропогенного воздействия на климатические условия. Целью проведенного исследования являлось осуществление анализа зарубежных технологий производства биокеросина, определение процессов с высокой технологической готовностью и проведение лабораторных и пилотных испытаний по переработке возобновляемого сырья. В качестве возобновляемого сырья рассмотрены отработанные растительные масла и животные жиры. Подвергнутое переработке масложировое сырье состоит из кислородсодержащих соединений и содержит металлы, которые являются каталитическими ядами в процессах гидропереработки. Для удаления каталитических ядов и достижения предельно допустимого уровня содержания металлов в продукте проведена предварительная очистка от металлов с помощью этерификации. Удаление кислорода из соединений масложирового сырья проводилось гидродеоксигенированием с целью получения парафинов C_{12} – C_{16} . *n*-Парафины C_{12} – C_{16} обладают слабыми низкотемпературными свойствами и не могут быть использованы в качестве авиационного топлива. Для придания продукту низкотемпературных свойств использована гидроизодепарафинизация. В результате проведенных испытаний разработана последовательность технологических процессов, состоящая из этерификации, гидродеоксигенирования, гидроизодепарафинизации и фракционирования, которая позволяет получить биокеросин авиационного топлива. В зарубежной практике используют авиационное топливо с максимальным содержанием биокеросина до 50%, что обеспечивает перспективу внедрения разработанной технологии для отечественных производителей.

Ключевые слова: биокеросин, гидродеоксигенирование, гидроизодепарафинизация, масложировое сырье, этерификация

Для цитирования: Давыдов В.О., Коровченко П.А., Заикин М.А., Древко Я.Б. Перспективы отечественной технологии производства биокеросина // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 133–142. DOI: 10.21285/achb.1022. EDN: VZQRQS.

Prospects for the Russian technology of biokerosene production

Vladislav O. Davydov^{*,**✉}, Pavel A. Korovchenko^{**},
Mikhail A. Zaikin^{***}, Yaroslav B. Drevko^{*}

^{*}Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov, Russian Federation

^{**}Gazprom Neft Technology Center, Saint Petersburg, Russian Federation

^{***}Saratov National Research University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov, Russian Federation

Abstract. The present work addresses the topic of renewable energy sources in the production of a biocomponent for aviation fuel. The possibility of producing and using synthesized biokerosene mixed with petroleum kerosene was tested and certified by foreign manufacturers. The global use of biokerosene is mainly focused on the reduction of greenhouse gas emissions and anthropogenic impact on climatic conditions. The present study aims to analyze the foreign technologies of biokerosene production, determine the processes with high technological readiness, and conduct laboratory and pilot tests on the processing of renewable raw materials. Waste vegetable oils and animal fats were considered as renewable raw materials. Recycled oil and fat raw materials include oxygenated compounds and metals that are catalytic poisons in hydroprocessing. In order to remove catalytic poisons and achieve the maximum acceptable level of metal content in the product, we used esterification for preliminary purification from metals. The procedure of hydrodeoxygenation was used to remove oxygen from the compounds of oil and fat raw materials and obtain C₁₂–C₁₆ paraffins. However, weak low-temperature properties of C₁₂–C₁₆ H-paraffins make them unusable as aviation fuel. Thus, we used hydroisodewaxing to give the product low-temperature properties. As a result of the conducted tests, a technological sequence consisting of esterification, hydrodeoxygenation, hydroisodewaxing, and fractionation was developed for producing the biocomponent of aviation fuel. In foreign practice, aviation fuel with a maximum biocomponent content of up to 50% is used, which provides the prospect for introducing the developed technology by Russian manufacturers.

Keywords: biokerosene, hydrodeoxygenation, hydroisodewaxing, oil and fat raw materials, esterification

For citation: Davydov V.O., Korovchenko P.A., Zaikin M.A., Drevko Ya.B. Prospects for the Russian technology of biokerosene production. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):133-142. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1022. EDN: VZQRQS.

ВВЕДЕНИЕ

В области международной экологической безопасности часто обсуждаются волнующие проблемы изменения климатических условий в связи с антропогенным воздействием на окружающую среду. Таким воздействием является парниковый эффект, который возникает в результате поглощения и отражения в сторону земной поверхности инфракрасных волн парниковыми газами. В сфере добычи, переработки и потреблении энергетических ресурсов в состав выбросов парниковых газов входят оксиды азота и углерода, углеводороды, синтетические газы и твердые взвешенные частицы [1, 2].

С учетом воздействия парникового эффекта реализуются меры по сокращению выбросов парниковых газов и достижению углеродной нейтральности компаний. Передовую практику в нефтегазовой отрасли демонстрируют компании BP, Total, Shell, PetroChina, которые заявили о плановом достижении углеродной

нейтральности до 2050 года [3]. Ключевую роль в достижении заявленной цели занимает государственное регулирование и субсидирование новых проектов по переработке возобновляемых источников энергии и повышению энергоэффективности производств [4].

В настоящее время широко востребованным способом переработки возобновляемых источников энергии является технология получения низкоуглеродного реактивного топлива Sustainable Aviation Fuel (SAF). На момент написания статьи SAF, сертифицированное по ASTM D7566¹, может использоваться зарубежными авиакомпаниями в виде смеси с традиционным нефтяным керосином типа Jet A-1 с коэффициентом смешения до 50%, что позволяет сократить выбросы парниковых газов до 80% за весь жизненный цикл производства [5]. На рис. 1 представлен прогноз роста объемов производства и потребления SAF в мире до 2035 года² [6].

¹ASTM D7566-22. Standard specification for aviation turbine fuel containing synthesized hydrocarbons // Store.astm.org. Режим доступа: <https://store.astm.org/d7566-22.html> (дата обращения 18.02.2026).

²ReFuelEU aviation annual technical report // Easa.europa.eu. Режим доступа: <https://www.easa.europa.eu/en/downloads/142606/en> (дата обращения 05.01.2025).

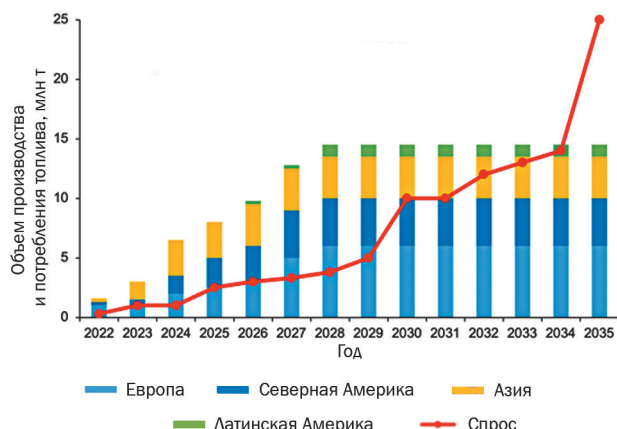


Рис. 1. Объемы мирового производства и спроса на топливо Sustainable Aviation Fuel

Fig. 1. Global production and demand for Sustainable Aviation Fuel

Вслед за зарубежными авиакомпаниями применения SAF не избежать и отечественным авиаперевозчикам, осуществляющим международные рейсы. Это связано со следующими причинами:

- введением в действие механизма трансграничного углеродного регулирования взамен бесплатно распределенных квот по выбросам парниковых газов, что потребует покупки углеродных сертификатов или единиц, компенсирующих выбросы произведенного топлива из ископаемого сырья [7];

- внедрением уплаты компенсационных платежей в рамках системы сокращения выбросов углекислого газа (CORSIA, от англ.: Carbon Offsetting and Reduction Scheme for International Aviation) с 2027 года при применении нефтяного керосина без вовлечения SAF [8].

Данные нововведения потребуют выбрать один из рассматриваемых вариантов: уплата вышеуказанных компенсаций, покупка необходимого объема SAF в зарубежных странах или создание в России технологических мощностей по производству SAF. Последнее предусматривает внесение изменений в государственный стандарт по марке применяемого

авиакеросина и сертификации произведенного топлива в рамках CORSIA.

В качестве мер государственного регулирования в России реализуется ряд федеральных законов об ограничении выбросов парниковых газов и об охране окружающей среды, позволяющих спрогнозировать и рассчитать количество выбросов CO₂e. Так, согласно Федеральному закону № 219 «Об охране окружающей среды»³, нефтеперерабатывающие заводы с 2018 года должны быть оснащены автоматическими средствами учета объема выбросов загрязняющих веществ. Контролю подлежат состав дымовых газов технологических печей, состояние атмосферного воздуха на аппаратном дворе (вследствие неплотности фланцевых соединений оборудования и трубопроводной арматуры), состав вентиляционных выбросов компрессорных и насосных помещений. На Московском нефтеперерабатывающем заводе система мониторинга внедрена в 2015 году и состоит из автоматизированной системы мониторинга атмосферного воздуха, автоматических станций контроля загрязнения атмосферы [9].

Активное участие в реализации государственных мер, описанных выше, принимает ПАО «Газпром нефть» (г. Санкт-Петербург, Россия). Помимо этого, данная компания занимается разработкой отечественной технологии производства авиационного керосина SAF из возобновляемого сырья.

Технологическая схема производства керосина фракционированием нефти или газоконденсата с последующей гидроочисткой хорошо известна и применяется на нефте- и газоперерабатывающих предприятиях. Ископаемые ресурсы, применяемые для переработки, состоят из парафиновых, наftenовых и ароматических углеводородов с содержанием гетероатомных соединений до 2,5 об.% [10], а возобновляемое сырье состоит из кислородсодержащих органических соединений. В связи с этим задача производства SAF из возобновляемого сырья требует нетрадиционного подхода к переработке.

В качестве примера возобновляемого сырья в табл. 1 и 2 приводится состав растительных масел [11]. Для сравнения в табл. 1 приведены среднестатистические значения элементного состава для нефти месторождений России и СНГ⁴.

Таблица 1. Элементный состав растительных масел, % масс.

Table 1. Elemental composition of vegetable oils, % mass.

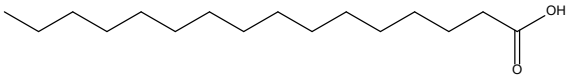
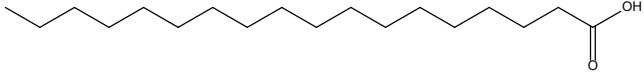
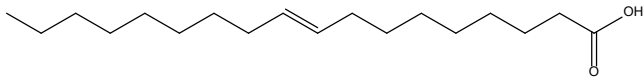
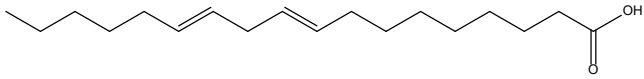
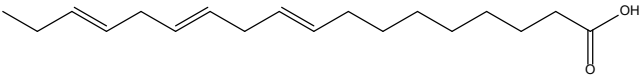
Параметр/ сырье	Масло				Нефть
	арахисовое	подсолнечное	соевое	рапсовое	
C	78,0	77,6	77,5	77,6	85,1
H	12,3	11,5	11,5	11,6	12,7
O	9,7	10,9	11,0	10,8	1,0
S	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0
N	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2

³О внесении изменений в Федеральный закон «Об охране окружающей среды» и отдельные законодательные акты Российской Федерации: Федер. закон от 21 июля 2014 г. № 219-ФЗ // Base.garant.ru. Режим доступа: <https://base.garant.ru/70700466/> (дата обращения: 18.02.2026).

⁴Спейт Д.Г. Анализ нефти: справочник / пер. с англ.; под. ред. Л.Г. Нехамкиной, Е.А. Новикова. СПб.: Изд-во ЦОП «Профессия», 2012. 480 с.

Таблица 2. Жирнокислотный состав рапсового масла, % масс.

Table 2. Fatty acid composition of rapeseed oil, % mass.

Компонент в составе масла		Содержание
Насыщенные кислоты		4,7
C16:0	Пальмитиновая 	3,5
C18:0	Стеариновая 	1,2
Мононенасыщенные кислоты		61,2
C18:1	Олеиновая 	61,2
Полиненасыщенные кислоты		34,1
C18:2	Линолевая 	24,6
C18:3	Линоленовая 	9,5

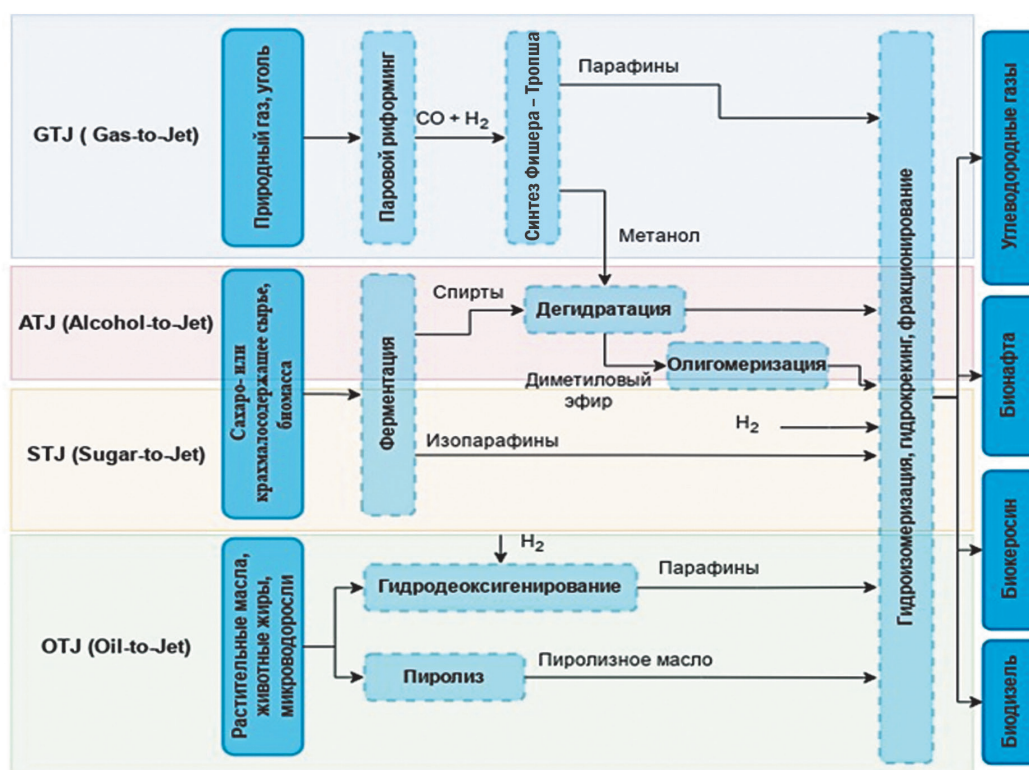


Рис. 1 Зарубежные технологические решения при производстве топлива Sustainable Aviation Fuel (GTJ (Gas-to-Jet) – технология по переработке газообразного сырья (природный газ, биогаз или синтез-газ); ATJ (Alcohol-to-Jet) – технология по переработке спиртов (этанол, изобутанол), полученных ферментацией биомассы; STJ (Sugar-to-Jet) – технология по переработке сахаросодержащей биомассы (сахарный тростник, кукуруза); OTJ (Oil-to-Jet) – технология по переработке масложирового сырья (согласно источникам [12]^{5,6}))

Fig. 2. Foreign technological solutions in the production of Sustainable Aviation Fuel (GTJ – Gas-to-Jet; ATJ – Alcohol-to-Jet; STJ – Sugar-to-Jet; OTJ – Oil-to-Jet (according to sources [12]^{5,6}))

Среди зарубежных компаний, использующих технологии производства SAF, можно упомянуть Neste, Honeywell, Shell, Haldor Topsoe, Chevron, Air BP. На рис. 2 приведены зарубежные технологические решения, использующиеся при производстве SAF.

Процессы гидрооблагораживания масложирового сырья являются наиболее приближенными к нефтеперерабатывающей промышленности за счет идентичных технологических условий (использование водородсодержащего газа) для удаления гетероатомных соединений и возможности использования схожей инфраструктуры (реакторное и сепарационное оборудование) по примеру гидрогенизационных процессов. Данное утверждение подтверждается лидирующими позициями по текущему и прогнозируемому использованию в производстве до 2035 года за счет высокого уровня технологической готовности. На рис. 3 представлено текущее и прогнозируемое распределение по технологиям получения SAF⁷.

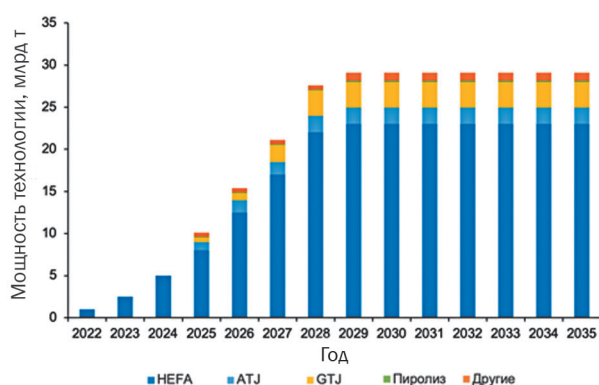


Рис. 3. Распределение мощностей технологий производства топлива Sustainable Aviation Fuel (HEFA (Hydroprocessed Esters and Fatty Acids) – технология по гидропереработке сложных эфиров жирных кислот; GTJ (Gas-to-Jet) – технология по переработке газообразного сырья (природный газ, биогаз или синтез-газ); ATJ (Alcohol-to-Jet) – технология по переработке спиртов (этанол, изобутанол), полученных ферментацией биомассы)

Fig. 3. Capacity distribution of Sustainable Aviation Fuel production technologies (HEFA – Hydroprocessed Esters and Fatty Acids; GTJ – Gas-to-Jet; ATJ – Alcohol-to-Jet)

Как следует из анализа мирового распределения, главным образом используется технология HEFA (гидропе-

реработка сложных эфиров жирных кислот). В прогнозируемой перспективе HEFA также занимает лидирующую позицию среди всех производственных мощностей по SAF [12–14]. В качестве сырья технологии HEFA используются растительные масла, животные жиры и отходы масложировой промышленности.

Согласно директиве Европейского Союза Renewable Energy Directive II (RED II) о стимулировании использования энергии из возобновляемых источников⁸, пищевые растительные масла являются возобновляемыми источниками энергии первого поколения. Для производства SAF в настоящее время могут быть использованы возобновляемые источники энергии второго и третьего поколения, например отработанные растительные (кулинарные) масла и животные жиры [14–16].

Рассматриваемые зарубежные технологические решения не подходят для применения в России ввиду отличия по физико-химическим свойствам применяемых марок авиационного керосина (зарубежной Jet A-1 и отечественной ТС-1), а также отсутствия сертификации биокompонента отечественных марок авиационного керосина для безопасного применения. С целью получения отечественного биокompонента авиационного топлива (SAF), отвечающего требованиям к сырью по директиве Европейского Союза, а также соответствующего требованиям ГОСТ 10227-2013⁹ для авиационного керосина ТС-1, в данной работе проведены лабораторные и пилотные испытания переработки отработанных кулинарных масел и технического животного жира ООО «Эковей» (г. Москва, Россия).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Отработанное кулинарное масло и животный жир помимо жирных кислот в своем составе содержат металлы. Последние являются каталитическими ядами в процессах гидрооблагораживания, что делает сырье непригодным для использования в процессах гидропереработки.

Для увеличения степени конверсии жирных кислот при гидропереработке и удаления металлов предложена этерификация отработанного кулинарного масла в присутствии избытка метанола и катализатора – серной кислоты. Реакция этерификации проводилась при температуре 60 °С в автоклаве объемом 3 л, оснащенном греющей рубашкой, с постоянным перемешиванием в течение заданного времени, заявленного в патенте [17]. По завершению реакции этерификации перемешивание останавливается и содержимое автоклава выдерживается

⁵ Wang W.-C., Tao L., Markham J., Zhang Y., Tan E., Batan L., et al. Review of biojet fuel conversion technologies: technical report // Docs.nrl.gov. Режим доступа: <https://www.nrel.gov/docs/fy16osti/66291.pdf> (дата обращения 05.01.2025).

⁶ De Jong S., Hoefnagels R., van Stralen J., Londo M., Slade R., Faaij A., et al. Renewable jet fuel in the European Union. Scenarios and preconditions for renewable jet fuel deployment towards 2030: report // Uu.nl. Режим доступа: https://www.uu.nl/sites/default/files/renewable_jet_fuel_in_the_european_union_-_scenarios_and_preconditions_for_renewable_jet_fuel_deployment_towards_2030.pdf (дата обращения 05.01.2025).

⁷ Howe C., Rolfe E., O'Dell K., McMurtry B., Razdan S., Otwell A. Pathways to commercial liftoff: sustainable aviation fuel: report // Ardsale.energy. Режим доступа: <https://yardsale.energy/wp-content/uploads/2025/05/DOE-Liftoff-SAF-2024.pdf> (дата обращения 05.01.2025).

⁸ Synopsis of fit for 55 drafts II COM (2021) 557 // Chatham.partners. Режим доступа: https://chatham.partners/site/assets/files/1031/chatham_partners_-_synopsis_-_fit_for_55_-_ii_-_red_ii.pdf (дата обращения: 18.02.2026).

⁹ ГОСТ 10227-2013. Топливо для реактивных двигателей. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2014. 18 с.

вается в течение 1 ч для разделения на фазы. Нижний слой является продуктом этерификации и отделяется от верхнего слоя, состоящего из непрореагировавшего метанола, серной кислоты и продуктовой водной фазы. Для удаления остаточного содержания метанола, определенного в нижнем слое продукта этерификации, использовалась отгонка на ротационном испарителе. Далее продукт этерификации направляется на стадии гидропереработки [17].

Стадии гидродеоксигенирования и гидроизодепарафинизации проводились в проточном реакторе с загрузкой катализатора в изотермической зоне при параметрах процессов, заявленных в источнике [17].

Аналитический контроль для сырья и продуктов осуществлялся с использованием стандартных методов определения требуемых физико-химических показателей.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рассмотрим результаты получения биокomпонента авиационного керосина поэтапно.

Для определения конверсии масложирового сырья в ходе реакции этерификации принято значение кислотного числа $KЧ$. Данное число является количественной характеристикой содержания свободных жирных кислот в масложировом сырье. В табл. 3 и 4 представлены результаты по содержанию металлов и кислотному числу сырья и продукта.

В ходе реакции этерификации образуются метиловые эфиры жирных кислот [13] и происходит частичная деме-таллизация масложирового сырья. По представленным результатам, конверсия свободных жирных кислот в метиловых эфирах жирных кислот составила 94,5–96,5%, а оценочная (средняя) степень деме-таллизации по Ca, Mg, Na, K – 88,0–96,3%.

В то же время для процессов гидропереработки со стационарным слоем катализатора допускается сырье с содержанием металлов до 50 мг/кг [18]. В связи с этим для дальнейшей переработки на стадии гидродеоксигенирования и гидроизодепарафинизации выбран продукт этерификации смеси отработанного растительного масла и животного жира с общим содержанием металлов 48 мг/кг.

На стадии гидродеоксигенирования в присутствии водородсодержащего газа протекают реакции гидрирования связи C=O, C-O и декарбонилирования связей C-O-C с образованием углеводородов парафинового ряда с сохранением числа углеродных атомов исходных жирных кислот и воды (рис. 4).

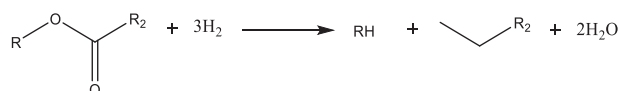


Рис. 4. Реакция стадии гидродеоксигенирования

Fig. 4. Hydrodeoxygenation stage reaction

В качестве самостоятельного продукта парафины стадии гидродеоксигенирования могут быть использованы в качестве сырья нефтехимической промышленности в производстве биопластиков [19]. Тем не менее в качестве компонента авиационных керосинов углеводороды нормального строения применены быть не могут, так как обладают неудовлетворительными низкотемпературными свойствами. В связи с этим для получения биокomпонента авиационного керосина требуется стадия гидроизодепарафинизации.

Гидроизодепарафинизация (рис. 5) применяется для улучшения низкотемпературных свойств и превращения нормальных парафинов в изомерные углеводороды разветвленного строения.

Таблица 3. Результаты процесса этерификации смеси отработанного растительного масла и животного жира

Table 3. Results of the esterification of used vegetable oil and animal fat mixture

Образец/показатель	$KЧ$, мгКОН/г	Содержание, мг/кг			
		Ca	Mg	Na	K
Отработанное растительное масло: животный жир = 1:1	8,62	194,00	5,00	100,00	22,00
Продукт этерификации	0,30	<0,10	<0,10	48,00	<0,10
Конверсия/степень очистки, %	96,5	99,99	99,99	52,00	99,99

Примечание. Здесь и в табл. 4 кислотное число $KЧ$ определено согласно ASTM D664¹⁰, параметры Ca–K – по IP 501, IP 470.

Таблица 4. Результаты процесса этерификации животного жира

Table 4. Results of the animal fat esterification

Образец/показатель	$KЧ$, мгКОН/г	Содержание, мг/кг			
		Ca	Mg	Na	K
Животный жир	13,10	400,00	75,00	500,00	70,00
Продукт этерификации	0,72	<0,10	<0,10	73	<0,10
Конверсия/степень очистки, %	94,50	99,99	99,99	85,40	99,99

¹⁰ ASTM D664-24. Standard test method for acid number of petroleum products by potentiometric titration // Store.astm.org. Режим доступа: <https://store.astm.org/standards/d664> (дата обращения: 18.02.2026).



Рис. 5. Реакция гидроизодепарафинизации

Fig. 5. Hydroisodeparaffination reaction

Продукт гидроизодепарафинизации состоит из изопарафинов C_5 – C_{18} и имеет широкий фракционный состав (температура начала кипения – 300 °С). Фракционный состав авиационного керосина нормируется по ГОСТ 10227-2013 и ASTM D1655¹¹ и ограничен пределами выкипания фракции 150–250 °С и более 205–300 °С. Для соответствия нормам по фракционному составу произведено выделение фракции 150–250 °С и определены основные свойства. В табл. 5 представлены показатели качества традиционного авиационного керосина марки ТС-1 и полученного биокеросина. Также для сравнения отечественного биокеросина приведен анализ топлива Jet A-1 и SAF HEFA [18].

На основании анализа представленных результатов можно отметить, что полученный биокомпонент авиационного керосина состоит из *n*-парафинов и соответствует показателям качества (фракционный состав, температура начала кристаллизации, массовая доля

общей серы и содержание ароматических углеводородов) для керосина Jet A-1 по ASTM D1655 и керосина ТС-1 по ГОСТ 10227-2013.

Плотность HEFA составляет 759,8 кг/м³ [20], а полученный в ходе проведенного исследования SAF обладает плотностью 749,3 кг/м³. Различия по показателю плотности от базового нефтяного топлива объясняются содержанием ароматических углеводородов. Содержание ароматических углеводородов в керосинах регламентируется для соответствия по показателю высоты некоптящего пламени. Чем больше ароматических соединений, тем хуже данный показатель.

Для отечественных производителей и авиакомпаний-потребителей данный фактор открывает перспективу применения биокеросина, полученного из отработанных растительных масел и животных жиров, не только для снижения углеродного следа, но и для улучшения характеристик авиационного керосина. Тем не менее для обеспечения безопасности использования биокомпонента авиационного топлива необходимо его сертифицировать и провести дополнительные испытания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенного исследования показано, что процессы гидропереработки для совре-

Таблица 5. Основные показатели качества авиационного топлива

Table 5. Aviation fuel quality indicators

Показатель	Метод	ТС-1 (ГОСТ 10227)	Jet A-1 (ASTM D1655)	ТС-1	Jet A-1 [20]	SAF HEFA [20]	SAF фракция 150–250 °С
Плотность при 20 °С (при 15 °С), кг/м ³ , не менее	ASTM D4052 ГОСТ 3900	>775,0	775,0–840,0*	787,2	802,5*	759,8*	749,3
Фракционный состав:							
начало кипения, °С		<150	<205	144	–	–	149
10% об., °С	ASTM D86	<165	–	157	170	161	159
50% об., °С	ГОСТ ISO 3405	<195	–	180	197	214	186
90% об., °С	ГОСТ 2177	<230	–	214	248	269	233
98% об., °С		<250	<300	227	266	281	246
Температура начала кристаллизации, °С, не выше	ASTM D2386 ГОСТ 5066 ГОСТ 32402	-60	-47	-63	-51	-55	-61
Массовая доля общей серы, %, не более	ASTM D1266 ГОСТ 32139 ГОСТ 32043	0,20	0,30	0,19	0,25-0,30	–	0
<i>n</i> -Парафины, об. %	ASTM D1319	–	–	58,9	21,0	8,5	–
<i>n</i> -Парафины, об. %		–	–		30,6	89,7	92,4
Циклопарафины, об. %	ГОСТ 31872	–	–	22,1	24,4	1,7	7,5
Ароматические углеводороды, об. %	ГОСТ 6944	20,0	25,0	15,8	24,0	0,03	0,1

Примечание. * – измерение показателя при 15 °С согласно ASTM D1655 для марки авиационного керосина Jet A-1.

¹¹ ASTM D1655-24. Standard specification for aviation turbine fuels // Store.astm.org. Режим доступа: <https://store.astm.org/d1655-24.html> (дата обращения: 18.02.2026).

менного нефтепереработчика не являются новыми, однако переработка сырья, состоящего из кислородсодержащих соединений, требует нетрадиционного подхода, заключающегося в проведении нескольких последовательных стадий переработки. Отработанные растительные масла и животные жиры помимо кислородсодержащих соединений содержат в своем составе металлы, которые выступают в качестве каталитических ядов процессов гидропереработки. В ходе лабораторных и пилотных испытаний показано, что процесс предварительной подготовки сырья – этерификация – подходит для очистки смесового масложирового сырья от металлов до требуемых значений 50 ppm.

В качестве процессов гидропереработки выбраны гидродеоксигенирование для удаления кислорода из

органических соединений, а также гидроизодепарафинизация для улучшения низкотемпературных свойств биокompонента авиационного топлива. Полученный продукт преимущественно состоит из *i*-парафинов, что благоприятно скажется на низкотемпературных и нагаробразующих свойствах топлива.

В зарубежных авиакомпаниях применение SAF в смеси с Jet A-1 пока ограничено содержанием до 50% по ASTM D7566. В перспективе после проведения сертификации и дополнительных испытаний на реактивных двигателях полученный биокеросин может применяться с отечественной маркой керосина ТС-1 и зарубежной маркой керосина Jet A-1, что позволит снизить углеродный след производителей и авиакомпаний.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Schram W., Louwen A., Lampropoulos I., van Sark W. Comparison of the greenhouse gas emissions reduction potential of energy communities // *Energies*. 2019. Vol. 12, no. 23. P. 4440. DOI: 10.3390/en12234440.
2. Морозова И.А., Семова Е.В. Современные требования к учету косвенных выбросов парниковых газов организации // *Стандарты и качество*. 2022. N 8. С. 22–27. EDN: QVUWEF.
3. Грушевенко Е., Капитонов С., Мельников Ю., Пердеро А., Шевелева Н., Сигиневич Д. Декарбонизация нефтегазовой отрасли: международный опыт и приоритеты России. М.: Сколково, 2021. 158 с.
4. Ekechukwu D.E., Simpa P. Trends, insights, and future prospects of renewable energy integration within the oil and gas sector operations // *World Journal of Advanced Engineering Technology and Sciences*. 2024. Vol. 12, no. 1. P. 152–167. DOI: 10.30574/wjaets.2024.12.1.0207.
5. Barbosa F.C. Sustainable aviation fuel – an effective tool for complying with the aviation's global environmental commitment // *SAE Technical Papers*. 2024. Vol. 1. P. 17. DOI: 10.4271/2024-36-0066.
6. Wang B., Ting Z.J., Zhao M. Sustainable aviation fuels: key opportunities and challenges in lowering carbon emissions for aviation industry // *Carbon Capture Science & Technology*. 2024. Vol. 13. P. 100263. DOI: 10.1016/j.ccst.2024.100263.
7. Лысунец М.В. Углеродное ценообразование как инструмент трансграничного углеродного регулирования и «зеленой» трансформации мировой экономики // *Мир новой экономики*. 2023. Т. 17. N 2. С. 27–36. DOI: 10.26794/2220-6469-2023-17-2-27-36. EDN: GDLUDT.
8. Pratama G.G. Enter the CORSIA first phase: aeroplane operators embark on offsetting their emissions for the first time, development trajectory, and what lies ahead for the scheme // *Chinese Journal of Environmental Law*. 2024. Vol. 8, no. 2. P. 271–283. DOI: 10.1163/24686042-12340126.
9. Никитина А.В. Окружающая среда под автоматизированным контролем // *Neftegaz.ru*. 2017. N 9. С. 50–54.
10. Гальперн Г.Д. Гетероатомные компоненты нефти // *Успехи химии*. 1976. N 8. С. 1395–1427.
11. Денежко Л.В., Новопашин Л.А., Садов А.А. Растительные масла как биокompонент смесевых топлив для дизелей // *Научно-технический вестник: технические системы в АПК*. 2019. N 4. С. 57–64. EDN: TDCWOU.
12. Shahriar F., Khanal A. The current techno-economic, environmental, policy status and perspectives of sustainable aviation fuel (SAF) // *Fuel*. 2022. Vol. 325. P. 124905. DOI: 10.1016/j.fuel.2022.124905.
13. Yang F., Yao Y. Sustainable aviation fuel pathways: emissions, costs and uncertainty // *Resources Conservation and Recycling*. 2025. Vol. 215. P. 108124. DOI: 10.1016/j.resconrec.2025.108124.
14. Давыдов В.О., Коровченко П.А., Заикин М.А., Древко Я.Б., Александренков И.С. Сырьевая база России при переходе к производству отечественного биокеросина // *Нефтегазохимия*. 2024. N 2. С. 5–8. DOI: 10.24412/2310-8266-2024-2-5-8. EDN: GIXAQJ.
15. Liam A.M., Aron B., Tiarnán W., Mark K., Mohammad R.G., Stephen D. A physics constrained methodology for the life cycle assessment of sustainable aviation fuel production // *Biomass and Bioenergy*. 2024. Vol. 185. P. 107169. DOI: 10.1016/j.biombioe.2024.107169.
16. Athanasios D., Loukia P. C., Athanasios I. K., Lambros I. D., Stella B. Animal fats valorization to green transportations fuels: from concept to industrially relevant scale validation // *Waste Management*. 2022. Vol. 143. P. 242–251. DOI: 10.1016/j.wasman.2022.03.001.
17. Пат. № 2834304, Российская Федерация, C10G 3/50, C10G 45/58, C11C 3/003, C11C 3/12, C11C 3/14. Способ получения смеси возобновляемых топливных компонентов из масложирового сырья / П.А. Коровченко, М.А. Заикин, В.О. Давыдов, М.А. Ершов, В.Д. Савеленко, Д.Р. Алексанян [и др.]. Заявл. 28.06.2024; опубл. 05.02.2025. Бюл. № 4.
18. Pérez-Rangel N., Coronado C., Ancheyta J. Approaches to conditioning of vegetable oil feedstock for hydrotreating to produce renewable diesel // *Fuel*. 2025. Vol. 383. P. 133897. DOI: 10.1016/j.fuel.2024.133897.
19. Naseem A., Azeem F., Siddique M.H., Hussain S., Rasul I., Saleem T., et al. Bioplastic materials from oils // *Biodegradable materials and their applications / eds Inamuddin, T. Altalhi. Scrivener*, 2022. P. 715–733. DOI: 10.1002/9781119905301.ch26.
20. Vrtiška D., Vozka P., Váňová V., Šimáček P., Kilaz G. Prediction of HEFA content in jet fuel using FTIR and chemometric methods // *Fuel*. 2019. Vol. 236. P. 1458–1464. DOI: 10.1016/j.fuel.2018.09.102.

REFERENCES

1. Schram W., Louwen A., Lampropoulos I., van Sark W. Comparison of the greenhouse gas emissions reduction potential of energy communities. *Energies*. 2019;12(23):4440. DOI: 10.3390/en12234440.
2. Morozova I.A., Semova E.V. Accounting for indirect greenhouse gas emissions: current requirements. *Standards and Quality*. 2022;(8):22-27. (In Russian). EDN: QVUWEF.
3. Grushevenko E., Kapitonov S., Melnikov Y., Perdero A., Sheveleva N., Siginevich D. *Decarbonization of oil and gas: international experience and Russian priorities*. Moscow: Skolkovo; 2021, 158 p. (In Russian).
4. Ekechukwu D.E., Simpa P. Trends, insights, and future prospects of renewable energy integration within the oil and gas sector operations. *World Journal of Advanced Engineering Technology and Sciences*. 2024;12(1):152-167. DOI: 10.30574/wjaets.2024.12.1.0207.
5. Barbosa F.C. Sustainable aviation fuel – an effective tool for complying with the aviation's global environmental commitment. *SAE Technical Papers*. 2024;1:17. DOI: 10.4271/2024-36-0066.
6. Wang B., Ting Z.J., Zhao M. Sustainable aviation fuels: key opportunities and challenges in lowering carbon emissions for aviation industry. *Carbon Capture Science & Technology*. 2024;13:100263. DOI: 10.1016/j.ccst.2024.100263.
7. Lysunets M.V. Carbon pricing as a tool for cross-border carbon regulation and "green" transformation of the global economy. *The world of new economy*. 2023;17(2):27-36. (In Russian). DOI: 10.26794/2220-6469-2023-17-2-27-36. EDN: GDLUDT.
8. Pratama G.G. Enter the CORSIA first phase: aeroplane operators embark on offsetting their emissions for the first time, development trajectory, and what lies ahead for the scheme. *Chinese Journal of Environmental Law*. 2024;8(2):271-283. DOI: 10.1163/24686042-12340126.
9. Nikitina A.V. The environment is under automated control. *Neftegaz.ru*. 2017;9:50-54. (In Russian).
10. Halpern G.D. Heteroatomic components of oil. *Uspekhi khimii*. 1976;8:1395-1427. (In Russian).
11. Denezhko L.V., Novopashin L.A., Sadov A.A. Oilseeds as a biocomponent of mixture fuels for diesels. *Scientific and Technical Bulletin. Technical systems in the agro-industrial complex*. 2019;4:57-64. (In Russian). EDN: TDCWOU.
12. Shahriar F., Khanal A. The current techno-economic, environmental, policy status and perspectives of sustainable aviation fuel (SAF). *Fuel*. 2022;325:124905. DOI: 10.1016/j.fuel.2022.124905.
13. Yang F., Yao Y. Sustainable aviation fuel pathways: emissions, costs and uncertainty. *Resources Conservation and Recycling*. 2025;215:108124. DOI: 10.1016/j.resconrec.2025.108124.
14. Davydov V.O., Korovchenko P.A., Zaikin M.A., Drevko Y.A.B., Alexandrenkov I.S. The raw material base of Russia in the transition to the production of domestic bio-kerosene. *Oil & Gas Chemistry*. 2024;2:5-8. (In Russian). DOI: 10.24412/2310-8266-2024-2-5-8. EDN: GIXAQJ.
15. Liam A.M., Aron B., Tiarnán W., Mark K., Mohammad R.G., Stephen D. A physics constrained methodology for the life cycle assessment of sustainable aviation fuel production. *Biomass and Bioenergy*. 2024;185:107169. DOI: 10.1016/j.biombioe.2024.107169.
16. Athanasios D., Loukia P. C., Athanasios I. K., Lambros I. D., Stella B. Animal fats valorization to green transportations fuels: from concept to industrially relevant scale validation. *Waste Management*. 2022;143:242-251. DOI: 10.1016/j.wasman.2022.03.001.
17. Korovchenko P.A., Zaikin M.A., Davydov V.O., Ershov M.A., Savelenko V.D., Aleksanyan D.R., Ilin A.V. *Method of producing mixture of renewable fuel components from fat-and-oil raw materials*. Patent RF, no. 2834304; 2025. (In Russian).
18. Pérez-Rangel N., Coronado C., Ancheyta J. Approaches to conditioning of vegetable oil feedstock for hydrotreating to produce renewable diesel. *Fuel*. 2025;383:133897. DOI: 10.1016/j.fuel.2024.133897.
19. Naseem A., Azeem F., Siddique M.H., Hussain S., Rasul I., Saleem T., et al. Bioplastic materials from oils. In: Inamuddin, Altalhi T. (eds). *Biodegradable materials and their applications*. Scrivener; 2022, p. 715-733. DOI: 10.1002/9781119905301.ch26.
20. Vrtiška D., Vozka P., Váchová V., Šimáček P., Kilaz G. Prediction of HEFA content in jet fuel using FTIR and chemometric methods. *Fuel*. 2019;236:1458-1464. DOI: 10.1016/j.fuel.2018.09.102.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Давыдов Владислав Олегович,
аспирант,
Саратовский государственный университет
генетики, биотехнологии и инженерии
имени Н.И. Вавилова,
410012, г. Саратов, пр. им. Петра Столыпина, 4,
Российская Федерация,
научный сотрудник,
Технологический центр «Газпром нефти»,
197350, г. Санкт-Петербург, ул. Дорога
в Каменку, 74а1, Российская Федерация,
✉ vladislav.davydov-23@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0008-7699-2794>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Vladislav O. Davydov,
Postgraduate Student,
Saratov State University of Genetics,
Biotechnology and Engineering
named after N.I. Vavilov,
4, Petr Stolypin Ave., Saratov, 410012,
Russian Federation,
Researcher,
Gazprom Neft Technology Center,
74a1, Road to Kamenka St., St. Petersburg, 197350,
Russian Federation,
✉ vladislav.davydov-23@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0008-7699-2794>

Коровченко Павел Александрович,

к.х.н., руководитель центра
НИОКР «Нефтепереработка»,
Технологический центр «Газпром нефти»,
197350, г. Санкт-Петербург, ул. Дорога
в Каменку, 74а1, Российская Федерация,
pk_rus@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3765-5209>

Заикин Михаил Алексеевич,

к.х.н., руководитель проектов,
Саратовский национальный исследовательский
государственный университет
имени Н.Г. Чернышевского,
410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83,
Российская Федерация,
mixail-zaikin@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0009-8759-7105>

Древко Ярослав Борисович,

к.х.н., доцент, заведующий кафедрой,
Саратовский государственный университет
генетики, биотехнологии и инженерии
имени Н.И. Вавилова,
410012, г. Саратов, пр. им. Петра Столыпина, 4,
Российская Федерация,
drevko@list.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4007-2140>

Вклад авторов

В.О. Давыдов – разработка методологии,
проведение исследования, написание
черновика рукописи.
П.А. Коровченко – административное
руководство исследовательским проектом,
курирование данных, формальный анализ.
М.А. Заикин – разработка методологии,
валидация результатов.
Я.Б. Древко – научное руководство,
формальный анализ.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии
конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 14.02.2025.
Одобрена после рецензирования 11.08.2025.
Принята к публикации 06.03.2026.

Pavel A. Korovchenko,

Cand. Sci. (Chemistry), Head of the R&D
Center "Oil Refining",
Gazprom Neft Technology Center,
74a1, Road to Kamenka, St. Petersburg, 197350,
Russian Federation,
pk_rus@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3765-5209>

Mikhail A. Zaikin,

Cand. Sci. (Chemistry), Project Manager,
Saratov National Research State University
named after N.G. Chernyshevsky,
83, Astrakhanskaya St., Saratov, 410012,
Russian Federation,
mixail-zaikin@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0009-8759-7105>

Yaroslav B. Drevko,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Head of the Department,
Saratov State University of Genetics,
Biotechnology and Engineering
named after N.I. Vavilov,
4, Petr Stolypin Ave., Saratov, 410012,
Russian Federation,
drevko@list.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4007-2140>

Contribution of the authors

Vladislav O. Davydov – methodology,
investigation, writing – original draft.
Pavel A. Korovchenko – project administration,
data curation, formal analysis.
Mikhail A. Zaikin – methodology, validation.
Yaroslav B. Drevko – supervision,
formal analysis.

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 14.02.2025.
Approved after reviewing 11.08.2025.
Accepted for publication 06.03.2026.



Электрокинетические характеристики электродиализной очистки цинкосодержащих растворов от ионов цинка, железа и натрия

А.В. Крылов, К.В. Шестаков, С.И. Лазарев, И.В. Хорохорина✉

Тамбовский государственный технический университет, Тамбов, Российская Федерация

Аннотация. В работе приведена экспериментальная установка и выполнены исследования по применению электродиализного разделения для модельных растворов, имитирующих отработанные промышленные электролиты, содержащие ионы Zn^{2+} , Fe^{3+} и Na^{+} . С целью обоснования выбора объектов исследования выполнен литературный обзор материалов на тему возможности использования электромембранных методов для очистки и концентрирования стоков промышленных производств. Результаты исследования вольтамперных характеристик позволили выявить два выраженных участка изменения кривой и определить, что сила тока выше для растворов с большей концентрацией катионов металлов практически на всем участке кривой. По результатам исследования степени очистки исходного раствора от катионов провели анализ динамики извлечения ионов Zn^{2+} и установили, что повышение плотности тока до 20 А/м^2 позволило увеличить скорость миграции ионов и тем самым повысить степень электродиализной очистки. Это хорошо видно на приведенных кинетических зависимостях, где кривые, соответствующие разным начальным концентрациям, расходятся сильнее. Предложен общий вывод, что применение ионообменных мембран МА-41 и МК-40 в электродиализном разделении эффективно для растворов, содержащих соединения цинка, железа и натрия, и в ряде случаев достаточно успешно по степени разделения на диализат и концентрат. Предложена методика технологического расчета электродиализных установок, которая позволяет определить предельную плотность тока, выход по току, площадь камер концентрирования и обессоливания, а также установить количество секций в аппарате.

Ключевые слова: электродиализное разделение, концентрация раствора, вольт-амперные характеристики, многокомпонентный раствор, ионообменные мембраны, методика расчета

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта «Теоретические и экспериментальные исследования электрокинетических и структурных характеристик полимерных мембран посредством применения искусственных нейронных сетей в процессах электромембранной очистки промышленных растворов, содержащих ионы металлов» (FEMU-2024-0011).

Для цитирования: Крылов А.В., Шестаков К.В., Лазарев С.И., Хорохорина И.В. Электрокинетические характеристики электродиализной очистки цинкосодержащих растворов от ионов цинка, железа и натрия // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. N 1. С. 143–153. DOI: 10.21285/achb.1024. EDN: WBIWGW.

Electrokinetic characteristics of electrodialysis purification of zinc-containing solutions from zinc, iron, and sodium ions

Aleksey V. Krilov, Konstantin V. Shestakov,
Sergey I. Lazarev, Irina V. Khorokhorina✉

Tambov State Technical University, Tambov, Russian Federation

Abstract. In this paper, we present an experimental setup and investigate the process of electrodialysis separation using model solutions simulating spent industrial electrolytes containing Zn^{2+} , Fe^{3+} , and Na^{+} ions. To justify the selection of the study objects, we carry out a literature review of publications on the feasibility of using electromembrane methods for the purification and concentration of industrial wastewater. The study of current-voltage characteristics revealed two distinct regions of the curve and found that solutions with greater concentrations of metal cations exhibit a higher level of current over almost the entire range. Based on the investigation of purification degree of the initial solution from cations, the dynamics of Zn^{2+} ion removal were analyzed. It was found that an increase in the current density to 20 A/m² enhances ion migration rates and thereby improves the degree of electrodialysis purification. This is evidenced by the presented kinetic curves, where the profiles corresponding to different initial concentrations diverge more significantly. It is concluded that the use of MA-41 and MK-40 ion-exchange membranes in electrodialysis separation is effective for solutions containing zinc, iron, and sodium compounds. In a number of cases, these membranes enable satisfactory separation into dialysate and concentrate. A methodology for the process design calculation of electrodialysis units is proposed, allowing determination of the limiting current density, current efficiency, the area of concentration and desalination compartments, as well as the required number of sections in the setup.

Keywords: electrodialysis separation, solution concentration, current-voltage characteristics, multicomponent solution, ion-exchange membranes, calculation methodology

Funding. The Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation financially supported this work within the framework of the project "Theoretical and experimental studies of the electrokinetic and structural characteristics of polymer membranes through the use of artificial neural networks in the processes of electromembrane purification of industrial solutions containing metal ions" (FEMU-2024-0011).

For citation: Krilov A.V., Shestakov K.V., Lazarev S.I., Khorokhorina I.V. Electrokinetic characteristics of electrodialysis purification of zinc-containing solutions from zinc, iron, and sodium ions. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2026;16(1):143-153. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.1024. EDN: WBIWGW.

ВВЕДЕНИЕ

Гальванические покрытия применяются для предотвращения коррозии деталей и улучшения физико-химических свойств поверхности металла [1–3]. К таким покрытиям применяются требования по толщине и структуре. Для достижения необходимых характеристик покрытия подбирают соответствующий состав электролита, температурный режим и плотность тока [3]. Решение задач по покрытию деталей приводит к использованию в производственных процессах электролитов, которые в разной степени содержат потенциально опасные загрязняющие вещества, включая тяжелые металлы, органические соединения и ионы токсичных веществ. Это делает гальваническое производство опасным источником загрязнения как поверхностных, так и подземных вод ионами тяжелых металлов [4]. Цинкование является одним из самых распространенных гальванических процессов, в ходе которого на поверхность деталей осаждают тонкий слой цинка, и на это расходуется до 40% мировой добычи

цинка [4–6], а также этот процесс характеризуется образованием больших объемов сточных вод. В работе [7] авторами исследован метод электродиализного разделения раствора, содержащего хлорид цинка, и изучены процессы, происходящие на поверхности катионообменной и анионообменной мембран. Установлено, что поток гидроксид-ионов через анионообменную мембрану практически отсутствует, вплоть до превышения предельной плотности тока в 4 раза. Определено, что гидроксид-ионы, попадая в анионообменную мембрану, взаимодействуют в ее матрице с ионами цинка, находящимися в составе хелатных комплексов, с образованием гидроксида цинка. Авторами работы [8] предложены технология и оборудование, основанные на комбинировании прогрессивных мембранных и флотационных технологий, таких как ультрафильтрация, нанофильтрация, низконапорный обратный осмос и электрофлотация. Показано начальное содержание цинка в сточных водах (5–30 мг/л) и после электрофлотации – 0,3–0,7 мг/л, после

ультрафильтрации – менее 0,04 мг/л, после обратного осмоса – менее 0,01 мг/л

Авторы исследования [9] демонстрируют, что мембранный электролизер может функционировать по принципу электрохимического источника тока. Проведенные ими эксперименты показали снижение содержания взвешенных частиц за счет их осаждения в катодитной и анолитной камерах, что значительно превосходит результаты контрольного опыта, где осаждение происходило непосредственно в исходном растворе. В работе также представлены данные, подтверждающие высокую степень очистки сточных вод с использованием такого электролизера: удаление ионов цинка достигало 99,9%.

В публикации [10] подчеркивается, что широкому распространению электрохимической обработки воды и растворов мешают высокие энергетические затраты, массивность оборудования и необходимость в расходных материалах. В то же время приведен лабораторный пример очистки сточных вод от Zn^{2+} : при исходной концентрации 1,04 мг/дм³ после обработки ее удалось снизить до 0,375 мг/дм³.

Авторами работы [11] проведены исследования о применимости электрохимических методов для очистки растворов и сточных вод в зависимости от типа промышленных стоков и растворов (концентрация раствора, наличие микроорганизмов, твердых включений и т.д.). Анализ литературных данных позволил сделать вывод о том, что выбор электрохимического метода очистки конкретного технологического раствора зависит от физико-химических характеристик разделяемого раствора. Электрохимическое извлечение или задержание целевых компонентов (ионы металлов, сульфаты, хлориды и т.д.) необходимо применять совместно с другими традиционными методами очистки (фильтрация, центрифугирование, выпарка и т.д.). В работе [12] авторы разработали новые биоразлагаемые протоннообменные мембраны для твердополимерных топливных элементов, полученные на основе сшитого сульфоянтарной кислотой поливинилового спирта, допированного частицами цеолита типа ВЕА. Содержание цеолита в составе мембран варьировали в интервале от 1 до 25%. Исследования показали, что повышение содержания цеолита от 1 до 25% приводит к увеличению ионообменной емкости мембран от 1,5 до 2,9 ммоль/г, понижению влагосодержания с 38 до 28% и проницаемости по метанолу от $2,27 \times 10^{-6}$ до $6,91 \times 10^{-7}$ см²·с⁻¹. Ими также изучена температурная зависимость протонной проводимости композитных мембран в диапазоне от 30 до 80 °С при относительной влажности 100%. Наибольшее значение удельной электропроводности продемонстрировала мембрана, содержащая 25% цеолита ВЕА, протонная проводимость которой составила 23,2 мСм·см⁻¹.

В работе [13] авторами отмечено, что в процессе электрофлотации в присутствии различных анионов происходит извлечение из сточных вод комплекса загрязняющих веществ: гидроксидов и фосфатов тяжелых металлов – на 95–99%, взвешенных веществ – на 95–99%, нефтепродуктов – на 70–90%, поверхностно-активных веществ – на 50–70%.

В исследованиях [14, 15] подчеркивается, что электродиализ в современных условиях занимает одно из ведущих мест среди методов, направленных на снижение негативного влияния промышленной деятельности на

окружающую среду. Такой высокий интерес к технологии объясняется ее способностью эффективно разделять ионы различной природы, тем самым обеспечивая выборочное удаление загрязняющих компонентов из водных сред. Благодаря селективности и высокой степени очистки электродиализ рассматривается как перспективный инструмент для экологически безопасной переработки и восстановления качества водных растворов. Этот процесс основан на принципах ионной проводимости и диффузии, что позволяет добиться высокой степени очистки растворов и восстановления ценных ресурсов. История электродиализа за рубежом начинается с патента, полученного в 1980 году кубинцами Е. Майгрот и Дж. Сабатес, а в России первое применение было зафиксировано в 1932 году при попытке обессоливания воды в реке Неве [16]. Отметим также энергетическую эффективность электродиализа, что делает его конкурентным с традиционными методами обработки сточных вод и регенерации водных ресурсов.

Выполненный обзор работ [7–16] позволил отметить, что для решения задач по разделению и концентрированию промышленных растворов, а также ресурсосбережению необходимо применять высокоэффективные процессы, где отделение растворенных веществ от воды происходит на молекулярном уровне. К таким процессам относятся электромембранные методы, в частности электродиализное разделение. Поэтому целью данной работы явилось исследование электрокинетических характеристик, оценивающих степень электродиализного извлечения ионов цинка, железа и натрия из промышленных растворов для практического использования этих компонентов в процессе оцинкования металлических изделий.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В процессе цинкования используются кислые, щелочные, цианистые и цинкаты электролиты [3]. В результате работы возникает необходимость обновления таких электролитов, а объемы сбрасываемых отработанных электролитов составляют порядка 2–3% от общего количества сточных вод гальванического производства [17, 18]. Состав исследуемых растворов процесса цинкования приведен в табл. 1.

Таблица 1. Состав технологического раствора после цинкования

Table 1. Composition of the process solution after galvanizing

Вещество	Концентрация в технологическом растворе, мг/л
ZnSO ₄	50–200
NaOH	50–200
FeCl ₃	50–200

В ходе выполнения исследования была проведена серия опытов на лабораторной электродиализной установке, схема которой представлена на рис. 1 [19]. Данная установка включает в себя электромембранный модуль, систему мембранных насосов, контрольные манометры, а также набор исходных резервуаров, предназначенных для диллюата, концентрата и раствора, подаваемого в электродную камеру.

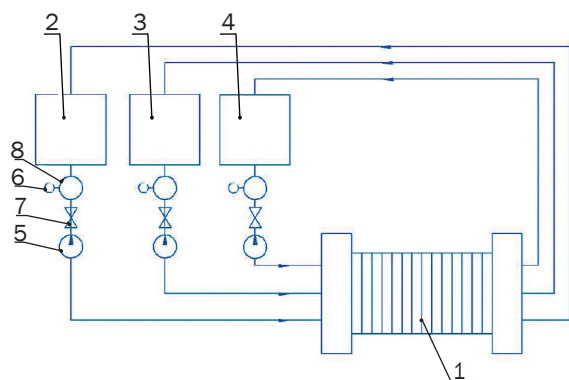


Рис. 1. Установка для исследования электродиализного разделения: 1 – мембранный модуль; 2 – емкость для концентрата; 3 – емкость электродной камеры; 4 – емкость для дилюата; 5 – диафрагменный мембранный насос; 6 – контрольный манометр; 7 – контрольный клапан; 8 – измеритель потока жидкости

Fig. 1. Electrodialysis separation research setup: 1 – membrane module; 2 – concentrate tank; 3 – electrode chamber tank; 4 – diluate tank; 5 – diaphragm membrane pump; 6 – control pressure gauge; 7 – control valve; 8 – liquid flow meter

Работа установки осуществляется следующим образом: мембранные насосы обеспечивают непрерывную циркуляцию растворов по замкнутому контуру, который включает исходную емкость, электромембранный модуль и обратный возврат жидкости в эту же емкость.

Основным элементом системы является электромембранный модуль. В его составе расположены по четыре катионообменные и четыре анионообменные мембраны марок МК-40 и МА-41 соответственно, выпускаемые ООО «ИП Щекиноазот». Их физико-химические характеристики приведены в табл. 2, что позволяет оценить пригодность данных мембран для процессов ионного разделения.

Важным аспектом на начальном этапе исследования электродиализного разделения растворов является анализ вольт-амперных характеристик, который позволяет оценить электрическую проводимость исследуемых растворов и выявить необходимые значения силы тока и напряжения для оптимальных режимов работы электродиализной установки, чтобы минимизировать энерго- и материалоемкость процессов. Поэтому были проведены электрохимические исследования и проанализированы вольт-амперные характеристики ионообменных мембран при электродиализном разделении многокомпонентных растворов, содержащих ионы Zn^{2+} , Fe^{3+} и Na^+ . В ходе исследований амперметром регистрировались значения напряжения в диапазоне от 1 до 30 В.

Таблица 2. Характеристики ионообменных мембран

Table 2. Characteristics of ion exchange membranes

Марка мембраны	Толщина, мм	Ионная группа	Ионная форма – противоион	Инертное связующее	Армирующая ткань
МК-40	0,3–0,5	SO_3H	Na^+	полиэтилен	полиамидная
МА-41	0,3–0,5	$N(CH_3)$	Cl^-	полиэтилен	полиамидная

Следующим этапом было исследование степени очистки исходного раствора от катионов. В ходе проведения опытов по очистке промышленных сточных вод были заданы определенные рабочие параметры, обеспечивающие сопоставимость и воспроизводимость результатов. В частности, плотность тока, подаваемого на электродиализную систему, устанавливали на уровне 10 и 20 А/м², а продолжительность каждого отдельного опыта составляла 3600 с (1 ч). Отбор проб для последующего анализа выполняли на выходе из электромембранной ячейки, что позволяло оценить фактическую степень изменения состава раствора после прохождения им зоны разделения.

Для исследований применялись модельные растворы, по составу максимально приближенные к электролитам, формирующимся в технологическом процессе гальванического производства. Эти растворы содержали гидроксид натрия (NaOH), сульфат цинка семиводный ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) и хлорид железа (III) ($FeCl_3$). Концентрации ионов Fe^{3+} , Zn^{2+} и Na^+ варьировались в диапазоне от 50 до 200 мг/дм³ по каждому компоненту, что позволяет охватить типичные значения, наблюдающиеся в реальных производственных стоках гальванического участка.

Анализ концентраций катионов был проведен методом прямой потенциометрии на pH-метре (ионмере) ИТАН. Метод потенциометрии основан на измерении равновесного потенциала измерительного электрода Е относительно потенциала электрода сравнения в анализируемом растворе [20, 21].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На первом этапе экспериментальной части работы был проведен анализ вольт-амперных характеристик электродиализной системы, что позволило оценить ее поведение при различных режимах работы и составах растворов (рис. 2). В процессе экспериментов были получены числовые данные, отражающие изменение напряжения и силы тока в системе при заданных условиях, что является важным для определения оптимальных рабочих параметров электромембранного разделения.

Параллельно с этим была рассчитана эффективность очистки растворов в дилюатных камерах. Усредненные значения степени удаления ионов металлов из исходного раствора, полученные для всех изученных диапазонов концентраций, сведены и наглядно представлены на рис. 3. Эти результаты позволяют проследить зависимость эффективности процесса от состава раствора и условий его обработки.

Проанализировав данные вольт-амперных характеристик для многокомпонентных растворов, содержащих катионы Zn^{2+} , Fe^{3+} и Na^+ , полученные при электродиализном разделении многокомпонентных растворов, можно выделить два явно выраженных участка изменения кривой. Первый участок – линейный омический,

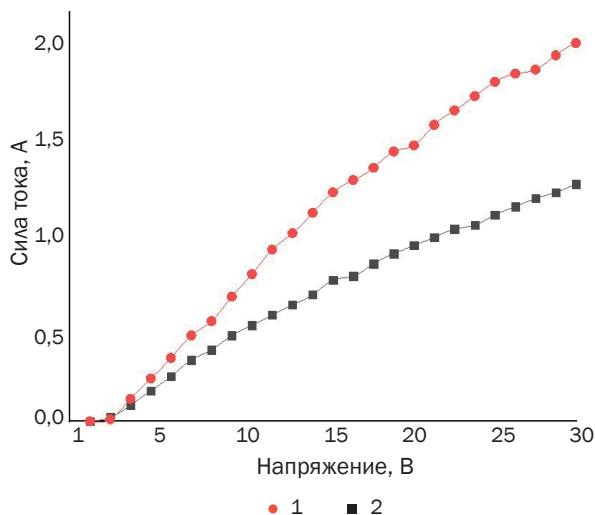


Рис. 2. Вольтамперные характеристики мембран МА-41 и МК-40 в растворах с концентрацией 100 мг/л (1) и 200 мг/л (2)

Fig. 2. Voltampere characteristics of membranes MA-41 and MK-40 in solutions with a concentration of 100 mg/l (1) and 200 mg/l (2)

который характеризует сопротивление мембраны. Для многокомпонентных растворов с концентрацией 100 и 200 мг/л он находится в диапазоне от 0 до 2 В. Следующая зона на вольтамперной кривой соответствует области сверхпредельных токов. В этом диапазоне начинается активное образование ионов H^+ и OH^- , что связано с развитием концентрационной поляризации у поверхности мембран. Анализ полученных вольт-амперных характе-

ристик показывает, что для растворов с повышенной концентрацией (200 мг/л) значения тока практически на всем протяжении кривой оказываются заметно выше. Максимальные показатели силы тока были зарегистрированы именно для многокомпонентного раствора указанной концентрации: при достижении верхнего уровня рабочего напряжения ток возрастал до 2,05 А [22].

По итогам серии выполненных экспериментов были определены параметры эффективности удаления ионов Zn^{2+} из исследуемых многокомпонентных растворов. Оценка проводилась при двух уровнях плотности тока — 10 А/м² (результаты приведены на рис. 3, а) и 20 А/м² (см. рис. 3, б). Полученные данные позволяют сравнить влияние интенсивности электрического воздействия на степень очистки ионов цинка.

При электродиализной обработке многокомпонентного раствора, включающего катионы Zn^{2+} , Fe^{3+} и Na^+ , и при работе системы в режиме плотности тока 10 А/м² было установлено, что концентрация ионов цинка в дилуатной камере постепенно и равномерно уменьшалась. Такое монотонное снижение нормированной концентрации Zn^{2+} наблюдалось на протяжении всего хода эксперимента независимо от исходного содержания ионов в растворе. Это свидетельствует о стабильном переходе цинка через мембранный пакет и эффективности процесса его извлечения в заданных условиях. Дискретные значения изменения нормированной концентрации катионов цинка во времени аппроксимируются экспоненциальной зависимостью, что указывает на процесс переноса ионов через ионообменные мембраны, который ограничен диффузионными и миграционными явлениями.

Наблюдаемая динамика удаления катионов Zn^{2+} в начальный период характеризуется достаточно быстрым

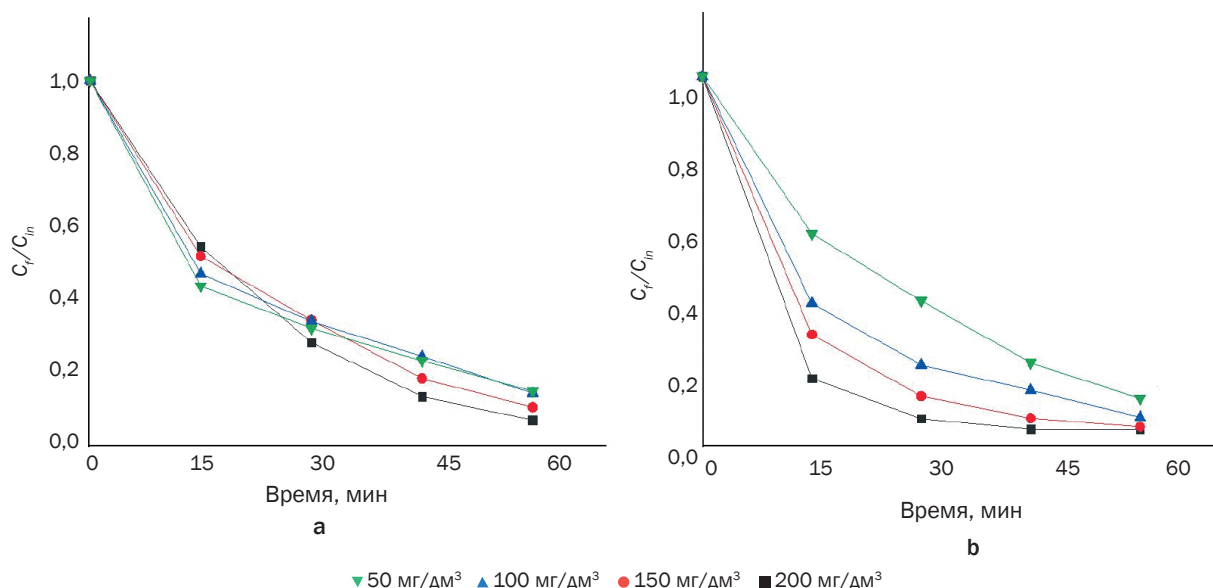


Рис. 3. Зависимости конечной концентрации C_f ионов Zn^{2+} , нормированной к исходной концентрации C_{in} , от времени для камеры дилуата в процессе электродиализного разделения многокомпонентных растворов при плотности тока 10 А/м² (а) и 20 А/м² (б) на мембранах МА-41 и МК-40

Fig. 3. Dependences of the final concentration C_f of Zn^{2+} ions, normalized to the initial C_{in} , on time for the diluate chamber in the process of electro dialysis separation of multicomponent solutions at a current density of 10 А/м² (а) and 20 А/м² (б) on MA-41 and MK-40 membranes

снижением концентрации, и примерно половина катионов удалась из камеры дилуата в первые 20–30 мин эксперимента. Это, вероятно, объясняется начальным градиентом концентрации между раствором и мембраной, способствующим активному переносу ионов. Данный эффект наблюдается у растворов со всеми значениями исходной концентрации (50, 100, 150 и 200 мг/дм³).

Анализ экспериментальных данных показал, что степень очистки раствора в дилуатной камере обратно пропорциональна первой концентрации растворенных веществ C_{in} . Иными словами, чем выше исходное содержание ионов в системе, тем ниже итоговая эффективность их удаления. Так, при начальной концентрации Zn^{2+} , равной 50 мг/дм³, процесс электродиализа обеспечил высокую степень очистки – 95,3% от исходного количества катионов. Однако по мере увеличения содержания цинка в исходном растворе фиксируется постепенное снижение эффективности: при 100 мг/дм³ она составляет 91,6%, при 150 мг/дм³ – 87,7%, а при 200 мг/дм³ эффективность снижается до 80%. Такое поведение связано с ростом ионной нагрузки на мембранный пакет и ограничением транспортных возможностей системы при более высоких концентрациях. Это подтверждает влияние концентрационной поляризации у поверхности ионообменных мембран и, возможно, конкурентного переноса других ионов, присутствующих в многокомпонентном растворе, на селективность и на массоперенос при увеличении исходной концентрации растворенных веществ в процессе электродиализного разделения.

Проведение электродиализного разделения при повышении плотности тока до 20 А/м² позволило ускорить процесс очистки. Этот эффект заметен на графике и имеет вид более крутого, вогнутого спада экспоненциальных кривых, отражающих снижение нормированной концентрации катионов цинка во времени. Такая форма кривых указывает на интенсификацию процесса удаления ионов Zn^{2+} из камеры для дилуата. Обратим внимание, что при повышенной плотности тока исходная концентрация раствора оказывает более существенное влияние на эффективность очистки, чем при 10 А/м². Эта закономерность хорошо видна на рис. 3, б, где кривые, соответствующие разным начальным концентрациям, расходятся значительно сильнее [19].

Вероятным механизмом, объясняющим интенсификацию массопереноса при увеличении плотности тока, является формирование электроконвективных потоков в приграничном слое мембраны. При повышенной плотности тока увеличивается разность потенциалов вблизи мембраны, что приводит к возникновению неоднородностей в распределении ионов и, как следствие, к развитию электроконвекции. Эти электроконвективные потоки обеспечивают более интенсивное перемешивание раствора вблизи поверхности мембраны, тем самым существенно снижая диффузионное сопротивление. В результате этого процесса значительно возрастает скорость массопереноса катионов Zn^{2+} через мембрану. Эффективность очистки от катионов цинка в камере

дилуата составила 99,9, 99,8, 96,5 и 91,3% для многокомпонентных растворов с исходной концентрацией 50, 100, 150 и 200 мг/дм³ соответственно.

Для практического использования полученных результатов исследования электродиализного разделения цинкосодержащих растворов необходим выбор электродиализной установки, в которой определяющим является электромембранный аппарат. Для определения конструкторско-технологических характеристик надо провести его технологический расчет, который начинают с определения переноса ионов в секциях концентрирования и обессоливания.

Перенос ионов в отделениях для концентрирования и обессоливания происходит посредством механизмов диффузии, миграции и конвекции в соответствии с уравнением Нернста – Планка [23, 24]:

$$J_i = -(D_i \nabla C_i + z_i u_{m,i} F C_i \nabla \varphi) + u C_i, \quad (1)$$

где D_i – эффективный коэффициент диффузии, м²/с; C_i – концентрация, кг/м³; z_i – заряд; $u_{m,i}$ – ионная подвижность, м²/В·с; F – постоянная Фарадея, Кл/моль; φ – электрический потенциал, В; u – вектор скорости, м/с.

Предельная плотность тока определяется как максимально возможная плотность тока, которую можно достичь при определенных условиях эксплуатации, учитывая ограничения, связанные с электрохимическими процессами и стабильностью мембраны [25]:

$$i_{пр} = \frac{F D C_{in}}{(\bar{t} - t) \delta} + \frac{\bar{P} F C_{in}}{(\bar{t} - t) l}, \quad (2)$$

где F – постоянная Фарадея, Кл/моль; D – коэффициент диффузии, м²/с; C_{in} – исходная концентрация раствора, кг/м³; $\bar{t}$, t – числа переноса в мембране и растворе соответственно; δ – толщина слоя Нернста, м; $\bar{P}$ – проницаемость мембраны, м/с; l – толщина мембраны, м.

Для определения технологических параметров электродиализатора изучается и выбирается исходная и конечная концентрации целевого вещества, а также тип мембраны, используемой в процессе. Предельная плотность тока рассчитывается по формуле (2).

Выход по току η_T зависит от свойств мембран и вычисляется следующим образом¹:

$$\eta_T = 1 - (t^- + t^+) - \frac{FD}{i}, \quad (3)$$

где t и t^+ – числа переноса ионов в соответствующих мембранах; i – плотность тока, А/м².

Рабочая площадь мембраны S_p , требуемая для достижения нужной степени деминерализации ΔC , пропускной способности установки $Q_{уст}$ и плотности тока i определяется по формуле

$$S_p = \frac{F Q_{уст} \times \Delta C}{\eta_T i}. \quad (4)$$

Для определения рабочей площади мембраны необходимо рассчитать требуемую пропускную способность установки $Q_{уст}$ следующим образом:

¹Шестаков К.В. Научные и технологические основы электромембранных методов очистки промышленных растворов производств печатных плат, химического синтеза и гальванопокрытий: дис. ... д-ра техн. наук: 05.17.03. Тамбов, 2023. 426 с. EDN: QHFNEC.

$$Q_{уст} = vmd_q n_{яч}, \quad (5)$$

где v – скорость протекания дилюата, м/с; m – ширина потока, м; d_q – расстояние между мембранами, м; $n_{яч}$ – число ячеек.

Обменная производительность мембран по удаляемому иону $G_{об}$ рассчитывается по формуле

$$G_{об} = \frac{(C_{in} - C_f)V}{S_p \tau}, \quad (6)$$

где V – объем камеры, м³; C_f – конечная концентрация, кг/м³; τ – время протекания процесса, с.

Удельный расход электроэнергии вычисляется по формуле

$$G_{эл} = \frac{i\tau E_{общ}}{Q_{уст}}, \quad (7)$$

где $E_{общ}$ – напряжение на электродиализаторе, В.

$$E_{общ} = \varphi_a \times \varphi_k \times \eta_a \times \eta_k \times E_{эл} + E_k + E_{конт} + E_m, \quad (8)$$

где φ_a и φ_k – равновесные потенциалы анода и катода в изучаемой среде, В; η_a и η_k – перенапряжение на аноде и катоде, В; $E_{эл}$ – омическое падение напряжения на преодоление электрического сопротивления электролита (в случае многокамерного электродиализатора), В; E_k – падение напряжения в католите (анолите), В; $E_{конт}$ – падение напряжения в контактах, подводящих ток к электродам, В; E_m – падение напряжения в мембране, В.

Затем рассчитываем число аппаратов в первой секции электродиализных установок. Для этого используется уравнение

$$N_1 = \frac{G_{диал}}{G_{конц}}, \quad (9)$$

где $G_{диал}$ – производительность по диализату, м³/ч; $G_{конц}$ – производительность по концентрату, м³/ч.

Далее необходимо определить количество секций m по приведенной ниже формуле, предварительно округлив до ближайшего большего целого числа полученное дробное значение.

$$m = \frac{\ln[1 + \frac{N_{анп}}{N_1}(\frac{1}{q} - 1)]}{\ln \frac{1}{q}}, \quad (10)$$

где $N_{анп}$ – общее количество мембранных аппаратов в установке, шт.; q – параметр, который представляет собой отношение скоростей потока на входе и выходе из каждой секции аппарата.

Следующим этапом является расчет количества

мембранных аппаратов во второй и последующих секциях при использовании формулы

$$N_i = \frac{N_{i-1}}{q} \dots N_j = \frac{N_{j-1}}{q}. \quad (11)$$

Если общее количество аппаратов в установке, которое было использовано в предыдущем расчете $N_{анп}$, не совпадает с полученным количеством после секционирования $N_{анп} \neq N_1 + N_2 + \dots + N_j$, то необходимо перераспределить недостающие или избыточные аппараты. Это может быть достигнуто путем добавления или уменьшения количества аппаратов в каждой секции пропорционально результатам, полученным при секционировании.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании выполненных экспериментальных и теоретических исследований электрокинетических характеристик, оценивающих степень электродиализного разделения цинксодеждающих растворов от ионов цинка, железа и натрия, можно сделать следующие выводы:

1. В рамках выполненной работы был осуществлен подробный обзор литературных источников, посвященных современным методам электромембранной обработки сточных вод. Кроме того, описана использованная лабораторная электродиализная установка и представлены результаты экспериментальных исследований, направленных на оценку возможности применения электродиализного процесса для разделения модельных растворов. Эти растворы по составу воспроизводили характеристики отработанных промышленных цинксодеждающих стоков и включали в себя катионы Zn^{2+} , Fe^{3+} и Na^+ , что позволило максимально приблизить экспериментальные условия к реальным технологическим ситуациям.

2. Результаты исследования вольтамперных характеристик позволили выявить два выраженных участка изменения значений силы тока и определить, что она выше для растворов с большей концентрацией практически на всем участке кривой.

3. По результатам исследования степени очистки исходного раствора от катионов проведен анализ динамики удаления катионов Zn^{2+} . Установлено, что повышение плотности тока до 20 А/м² позволит увеличить скорость миграции ионов и тем самым повысить степень процесса электродиализной очистки.

4. Предложена методика технологического расчета электродиализных установок, что позволяет определить предельную плотность тока, выход по току, площадь камер концентрирования и обессоливания, а также установить количество секций в аппарате.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Дурнев Д.А., Косяшников А.Ю., Тарасова В.В. Гальванические покрытия. Процесс гальванического цинкования // Фундаментальные и прикладные исследования в области химии и экологии: сб. науч. статей Междунар. науч.-практ. конф. (г. Курск, 11 октября 2023 г.). Курск: Изд-во ЮЗГУ, 2023. С. 95–98. EDN: QMUNPI.

2. Лукьяненко В.С., Щеголев А.В., Сергиенко С.Н. Автоматизация гальванического цинкования стальных

деталей // Автоматизация. Современные технологии. 2020. Т. 74. № 9. С. 387–390. EDN: MEGJHI.

3. Зудова М.И., Калинин М.В. Гальваническая линия цинкования // Инновационная наука. 2020. № 6. С. 8–10. EDN: DNEXVF.

4. Havrilova A.A., Maizelis A.O. Electrode processes in zinc pyrophosphate electrolyte // Colloquium-Journal. 2022. Vol. 11-1. P. 52–56. DOI: 10.24412/2520-6990-2022-11134-52-56. EDN: KMWOCW.

5. Немтинов В.А., Матрохин М.А., Немтинова Ю.В., Крылов А.В. Усовершенствование конструкции установки гальванического цинкования мелких деталей черных металлов в насыпном виде // Вестник Тамбовского государственного технического университета. 2020. Т. 26. N 3. С. 472–482. DOI: 10.17277/vestnik.2020.03.pp.472-482. EDN: OVDAVN.
6. Урбанович Н.И., Барановский К.Э., Розенберг Е.В., Ашуйко В.А., Матыс В.Г., Волосюк В.Ф. [и др.]. Анализ способов получения цинкодержащих покрытий с применением отходов производства горячего цинкования // Литье и металлургия. 2021. N 2. С. 87–93. DOI: 10.21122/1683-6065-2021-2-87-93. EDN: FEBWTL.
7. Бервицкая О.С., Наумова А.И., Фукалова Е.В. Исследование электролиза раствора хлорида цинка // Общество. Наука. Инновации (НПК-2018): сб. статей XVIII Всерос. науч.-практ. конф. (г. Киров, 2–28 апреля 2018 г.). Киров: Изд-во ВятГУ, 2018. Т. 1. С. 255–260. EDN: XRJXRB.
8. Колесников В.А., Вараксин С.О., Павлов Д.В. Очистка сточных вод различных производств с применением наилучших доступных технологий // Чистая вода: проблемы и решения. 2010. N 2–3. С. 50–59. EDN: MVUJYX.
9. Назаров В.Д., Назаров М.В., Вайншток П.Н. Очистка производственных сточных вод электрохимическим методом // Экология и промышленность России. 2014. N 2. С. 18–21. EDN: RVBZFZ.
10. Раева О.В., Шестаков И.Я., Фейлер О.В. Электрохимический способ очистки сточных вод переменным током // Решетневские чтения. 2010. Т. 1. С. 327–328. EDN: UNKJEN.
11. Ковалева О.А., Лазарев С.И., Попов Р.В., Левин А.А. Сравнительное исследование методов электрохимической очистки растворов и сточных вод различных производств // Вестник технологического университета. 2017. Т. 20. N 24. С. 27–31. EDN: KEKMND.
12. Чеснокова А.Н., Жамсаранжапова Т.Д., Закачевский С.А., Кулшреста В., Скорникова С.А., Макаров С.С. [и др.]. Влияние содержания цеолита на протонную проводимость и технические характеристики мембран на основе шитого поливинилового спирта // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 2. С. 360–367. DOI: 10.21285/2227-2925-2020-10-2-360-367. EDN: AMJLOB.
13. Павлов Д.В., Вараксин С.О., Колесников В.А. Оборотное водоснабжение промышленных предприятий // Сантехника. 2010. N 2. С. 30–39. EDN: TTDZAN.
14. Лазарев С.И., Долгова О.В., Шестаков К.В. Экономическая оценка применения электролизного метода с охлаждением растворов в технологической схеме очистки сточных вод гальванических производств // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского. 2024. N 1. С. 100–112. DOI: 10.17277/voprosy.2024.01.pp.100-112. EDN: SNSBCT.
15. Зидан О.Д. Анализ эффективности применения электролиза и обратного электролиза в промышленности // Современная наука и молодые ученые: сб. статей X Междунар. науч.-практ. конф. (г. Пенза, 23 июня 2022 г.). Пенза: Наука и просвещение, 2022. С. 30–33. EDN: RFERQT.
16. Заболоцкий В.И., Березина Н.П., Никоненко В.В., Шудренко А.А. Развитие мембранных технологий на основе электролиза в России // Наука Кубани. 2010. N 3. С. 4–10. EDN: UAAZVD.
17. Чепрасова В.И., Залыгина О.С., Марцуль В.Н. Исследование возможности получения пигментов из отработанных электролитов цинкования // Вестник Витебского государственного технологического университета. 2016. N 1. С. 105–116. EDN: WAWFZP.
18. Пашкевич О.Д., Санкевич Н.Л., Лихачева А.В. Отходы гальванического производства как сырьевой ресурс для получения оксида цинка // Охрана окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов: сб. материалов XIII Междунар. науч. конф. аспирантов и студентов (г. Донецк, 16–17 апреля 2019 г.). Донецк: Изд-во ДонНТУ, 2019. С. 42–45. EDN: ACOJGH.
19. Крылов А.В., Шестаков К.В., Лазарев С.И. Исследование и анализ вольтамперных характеристик мембран в многокомпонентных растворах, содержащих ионы // Фундаментальные и прикладные вопросы электрохимического и химико-каталитического осаждения и защиты металлов и сплавов: тезисы докладов III Междунар. конф., памяти чл.-корр. РАН Ю.М. Полукарова (г. Москва, 26–27 ноября 2024 г.). М.: Изд-во ИФХЭ РАН, 2024. С. 127. EDN: HFUPKM.
20. Шкундина С.Е. Определение ионов хлора в сернокислом электролите меднения с помощью иономера и хлоридселективного электрода // Гальванотехника и обработка поверхности. 2008. Т. 16. N 4. С. 54–55. EDN: KOGZGX.
21. Аляхина Е.А., Скворцова И.В. Применение рН-метра/иономера в химических лабораториях технопарка Омского государственного педагогического университета // Познание и деятельность: от прошлого к настоящему: материалы V Всерос. науч. конф. (г. Омск, 16 ноября 2023 г.). Омск: Изд-во ОмГПУ, 2023. С. 222–225. EDN: FXVUIM.
22. Филимонова О.С., Хорохорина И.В., Лазарев С.И., Брянкин К.В. Исследования вольт-амперных характеристик в процессе электродеионизационной очистки промышленных растворов от хромсодержащих веществ // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского. 2024. N 2. С. 53–63. DOI: 10.17277/voprosy.2024.02.pp.053-063. EDN: UQFRVO.
23. Kuldeep K., Kauranen P., Pajari H., Pajarre R., Murtomäki L. Electrodifusion of ions in ion exchange membranes: Finite element simulations and experiments // Chemical Engineering Journal Advances. 2021. Vol. 8. P. 100169. DOI: 10.1016/j.cej.2021.100169.
24. Lazarev S.I., Abonosimov O.A., Protasov D.N., Shestakov K.V. Mathematical model of electromembrane separation of copper-electroplating production solutions // Theoretical Foundations of Chemical Engineering. 2020. Vol. 54, no. 1. P. 208–215. DOI: 10.1134/S0040579519060071. EDN: OXTSLA.
25. Kononenko N.A., Demina O.A., Loza N.V., Dolgoplov S.V., Timofeev S.V. Theoretical and experimental investigation of limiting diffusion current in the systems with modified perfluorinated membranes containing sulfonic acid groups // Russian Journal of Electrochemistry. 2021. Vol. 57, no. 5. С. 505–518. DOI: 10.1134/s1023193521050062. EDN: EKFKYJ.

REFERENCES

1. Durnev D.A., Kosyashnikova Y.A., Tarasov V.V. Electroplating Coatings. Electroplating Process. In: *Fundamental and applied research in the field of chemistry and ecology: Proc. Int. Sci. Pract. Conf.* 11 October 2023, Kursk. Kursk: South West State University; 2023, p. 95-98. (In Russian). EDN: QMUNPI.
2. Lukyanenko V.S., Shchegolev A.V., Sergienko S.N. Luk'yanenko V.S., Shchegolev A.V., Sergienko S.N. Automation of the steel products galvanic zincing. *Avtomatizatsiya. Sovremennye tekhnologii.* 2020;74(9):387-390. (In Russian). EDN: MEGJHI.
3. Zudova M.I., Kalinichenko M.V. Zudova M.I., Kalinichenko M.V. Galvanic zinc coating line. *Innovation Science.* 2020;6:8-10. (In Russian). EDN: DNEXVF.
4. Havrilova A.A., Maizelis A.O. Electrode processes in zinc pyrophosphate electrolyte. *Colloquium-Journal.* 2022;11-1:52-56. DOI: 10.24412/2520-6990-2022-11134-52-56. EDN: KMWOCW.
5. Nemtinov V.A., Matrokhin M.A., Nemtinova Yu.V., Krylov A.V. Improving the design of the device for galvanic coating of small parts of ferrous metals in bulk. *Vestnik Tambovskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta.* 2020;26(3):472-482. (In Russian). DOI: 10.17277/vestnik.2020.03.pp.472-482. EDN: OVDVH.
6. Urbanovich N.I., Baranovsky K.E., Rozenberg E.V., Ashuiko V.A., Matys V.G., Volosyuk V.F., et al. Analysis of methods for obtaining zinc-containing coatings using hot-dip galvanizing production waste. *Foundry Production and Metallurgy.* 2021;2:87-93. (In Russian). DOI: 10.21122/1683-6065-2021-2-87-93. EDN: FEBWTL.
7. Bervitskaya O.S., Naumova A.I., Fukalova E.V. Study of electrodialysis of zinc chloride solution. In: *Society. Science. Innovations (NPC-2018): Proc. 18th All-Rus. Sci. Pract. Conf.* 2-28 April 2018, Kirov. Kirov: Vyatka State University; 2018, vol. 1, p. 255-260. (In Russian). EDN: XRJXRB.
8. Kolesnikov V.A., Varaxin S.O., Pavlov D.V. Wastewater treatment using best available techniques in different industries. *Chistaya voda: problemy i resheniya.* 2010;2:3:50-59. (In Russian). EDN: MVUJYX.
9. Nazarov V.D., Nazarov M.V., Vainshtok P.N. Electrochemical treatment of industrial wastewater. *Ecology and Industry of Russia.* 2014;2:18-21. (In Russian). EDN: RVBZFZ.
10. Raeva O.V., Shestakov I.Ya., Feiler O.V. Electrical-chemical method of sewage water treatment by ac current. *Reshetnevskie chteniya.* 2010;1:327-328. (In Russian). EDN: UNKJEN.
11. Kovaleva O.A., Lazarev S.I., Popov R.V., Levin A.A. Comparative study of methods of electrochemical purification of solutions and wastewater of various industries. *Vestnik tekhnologicheskogo universiteta.* 2017;20(24):27-32. (In Russian). EDN: KEKMHD.
12. Chesnokova A.N., Zhamsaranzhapova T.D., Zakarchevskiy S.A., Kulshrestha V., Skornikova S.A., Makarov S.S., et al. Effect of zeolite content on proton conductivity and technical characteristics of the membranes based on crosslinked polyvinyl alcohol. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology.* 2020;10(2):360-367. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2020-10-2-360-367. EDN: AMJLOB.
13. Pavlov D.V., Varaksin S.O., Kolesnikov V.A. Recycled water supply of industrial enterprises. *Santekhnika.* 2010;2:30-39. (In Russian). EDN: TTDZAN.
14. Lazarev S.I., Dolgova O.V., Shestakov K.V. Economic assessment of the application of electrodialysis method with solution cooling in wastewater treatment of galvanic products. *Problems of Contemporary Science and Practice. Vernadsky University.* 2024;1:100-112. (In Russian). DOI: 10.17277/voprosy.2024.01.pp.100-112. EDN: SNSBCT.
15. Zidane O.D. Analysis of the application of electrodialysis and reverse electrodialysis in industry. In: *Modern science and young scientists: Proc. 10th Int. Sci. Pract. Conf.* 23 June 2022, Penza. Penza: Nauka i prosveshchenie; 2022, p. 30-33. (In Russian). EDN: RFERQT.
16. Zabolozkiy V.I., Berezina N.P., Nikonenko V.V., Shudrenko A.A. The evolution of membranous technologies on the base of electrodialysis method in Russia. *Nauka Kubani.* 2010;3:4-10. (In Russian). EDN: UAAZVD.
17. Cheprasova V., Zalygina O., Martsul V. Research of the possibility for pigments obtaining from spent zinc electrolytes. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta.* 2016;1:105-116. (In Russian). EDN: WAWFZP.
18. Pashkevich O.D., Sankevich N.L., Likhacheva A.V. Galvanic production waste as a raw material resource for obtaining zinc oxide. In: *Environmental protection and rational use of natural resources: Proc. 13th Int. Sci. Conf. of postgraduates and students.* 16-17 April 2019, Donetsk. Donetsk: Donetsk National Technical University; 2019, p. 42-45. (In Russian). EDN: ACOJGH.
19. Krylov A.V., Shestakov K.V., Lazarev S.I. Study and analysis of current-voltage characteristics of membranes in multicomponent solutions containing ions. In: *Fundamental and applied issues of electrochemical and chemical-catalytic deposition and protection of metals and alloys: report abstracts of the 2nd Int. Conf. in memory of Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences Yu.M. Polukarov.* 26-27 November 2024, Moscow. Moscow: A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences; 2024, p. 127. (In Russian). EDN: HFUPKM.
20. Shkundina S.E. Determination of chloride ions in copper sulfate baths by means of ion-selective electrode. *Electroplating and Surface Treatment.* 2008;16(4):54-55. (In Russian). EDN: KOGZGX.
21. Alekhina E.A., Skvortsova I.V. Application of pH meter/ion meter in chemical laboratories of the technology park of Omsk State Pedagogical University. In: *Cognition and activity: from past to present: Proc. the 5th All-Rus. Sci. Conf.* 16 November 2023, Omsk. Omsk: Omsk State Pedagogical University; 2023, p. 222-225. (In Russian). EDN: FXVUIM.
22. Filimonova O.S., Khorokhorina I.V., Lazarev S.I., Bryankin K.V. Research on volt-ampere characteristics in the process of electrodeionization purification of industrial solutions from chromium-containing substances. *Problems of Contemporary Science and Practice. Vernadsky University.* 2024;2:53-63. (In Russian). DOI: 10.17277/voprosy.2024.02.pp.053-063. EDN: UQFRVO.
23. Kuldeep K., Kauranen P., Pajari H., Pajarre R., Murtomäki L. Electrodiffusion of ions in ion exchange membranes: Finite element simulations and experiments. *Chemical Engineering Journal Advances.* 2021;8:100169. DOI: 10.1016/j.cej.2021.100169.
24. Lazarev S.I., Abonosimov O.A., Protasov D.N., Shestakov K.V. Mathematical model of electromembrane

separation of copper-electroplating production solutions. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*. 2020;54(1):208-215. DOI: 10.1134/S0040579519060071. EDN: OXTSLA.

25. Kononenko N.A., Demina O.A., Loza N.V., Dolgoplov S.V., Timofeev S.V. Theoretical and experimental

investigation of limiting diffusion current in the systems with modified perfluorinated membranes containing sulfonic acid groups. *Russian Journal of Electrochemistry*. 2021;57(5):505-518. DOI: 10.1134/s1023193521050062. EDN: EKFKYJ.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Крылов Алексей Викторович,

аспирант,
Тамбовский государственный
технический университет,
392000, г. Тамбов, ул. Советская, 106/5,
Российская Федерация,
frost.8998@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0008-4093-4306>

Шестаков Константин Валерьевич,

д.т.н., доцент,
Тамбовский государственный
технический университет,
392000, г. Тамбов, ул. Советская, 106/5,
Российская Федерация,
kostyanshestakov@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3429-1139>

Лазарев Сергей Иванович,

д.т.н., профессор, заведующий кафедрой,
Тамбовский государственный
технический университет,
392000, г. Тамбов, ул. Советская, 106/5,
Российская Федерация,
lazarev.sergey.1962@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-0746-5161>

Хорохорина Ирина Владимировна,

д.т.н., доцент,
Тамбовский государственный
технический университет,
392000, г. Тамбов, ул. Советская, 106/5,
Российская Федерация,
✉ kotelnikovirina@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8722-3685>

Вклад авторов

А.В. Крылов – проведение исследования, валидация результатов.
К.В. Шестаков – визуализация, написание черновика рукописи.
С.И. Лазарев – научное руководство, курирование данных, написание черновика рукописи, редактирование рукописи.
И.В. Хорохорина – редактирование рукописи.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Alexey V. Krylov,

Postgraduate Student,
Tambov State Technical University,
106/5, Sovetskaya St., Tambov, 392000,
Russian Federation,
frost.8998@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0008-4093-4306>

Konstantin I. Shestakov,

Dr. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Tambov State Technical University,
106/5, Sovetskaya St., Tambov, 392000,
Russian Federation,
kostyanshestakov@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3429-1139>

Sergey I. Lazarev,

Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Head of the Department,
Tambov State Technical University,
106/5, Sovetskaya St., Tambov, 392000,
Russian Federation,
lazarev.sergey.1962@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-0746-5161>

Irina V. Khorokhorina,

Dr. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Tambov State Technical University,
106/5, Sovetskaya St., Tambov, 392000,
Russian Federation,
✉ kotelnikovirina@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-8722-3685>

Contribution of the authors

Alexey V. Krylov – investigation, validation.
Konstantin I. Shestakov – visualization, writing – original draft.
Sergey I. Lazarev – supervision, data curation, writing – original draft, editing.
Irina V. Khorokhorina – editing.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

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.

Информация о статье

Поступила в редакцию 02.06.2025.
Одобрена после рецензирования 28.09.2025.
Принята к публикации 20.03.2026.

Information about the article

The article was submitted 02.06.2025.
Approved after reviewing 28.09.2025.
Accepted for publication 20.03.2026.

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), ВИНТИ 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 16 N 1 (56) 2026

12+

**PROCEEDINGS OF UNIVERSITIES
APPLIED CHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY**

Volume 16 No. 1 (56) 2026

Редактор Ф.А. Посысоева

Перевод на английский язык:

А.В. Квеглис, М.В. Стрелецкая, Anastasia Stosic (PhD),
Н.Г. Попова (к.соц.н.), Е.А. Привалова (к.х.н.)

Верстка Т.С. Жевлаковой

Дата выхода в свет 30.03.2026. Формат 60×90/8.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Усл. печ. л. 20.
Тираж 500 экз. Зак. 30. 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